

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L) TERHADAP *Sclerotium rolfsii* PENYEBAB
REBAH KECAMBAH PADA TANAMAN KEDELAI
SECARA *IN-VITRO***

**Oleh
JEANNIFER THABITA KHARIS TAMBUNAN**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L) TERHADAP *Sclerotium rolfsii* PENYEBAB
REBAH KECAMBAH PADA TANAMAN KEDELAI
SECARA *IN-VITRO***

OLEH

JEANNIFER THABITA KHARIS TAMBUNAN

145040200111135

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TUMBUHAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing pendamping. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di suatu perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2018

Jeannifer Tambunan



SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Jeannifer Tambunan

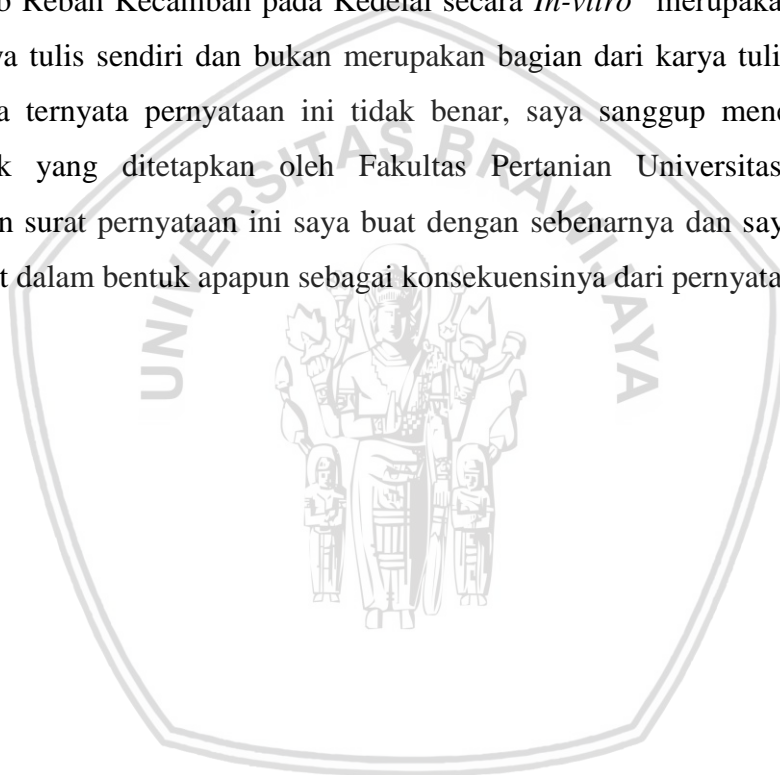
NIM : 145040200111135

Program Studi : Agroekoteknologi

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa judul skripsi sebagai berikut:

“Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Rebah Kecambah pada Kedelai secara *In-vitro*” merupakan karya tulis yang saya tulis sendiri dan bukan merupakan bagian dari karya tulis orang lain. Bilamana ternyata pernyataan ini tidak benar, saya sanggup menerima sanksi akademik yang ditetapkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan saya tidak akan menuntut dalam bentuk apapun sebagai konsekuensinya dari pernyataan ini.



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L)
terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Rebah Kecambah
pada Tanaman Kedelai secara *In-vitro*

Nama Mahasiswa : Jeannifer Tambunan

NIM : 145040200111135

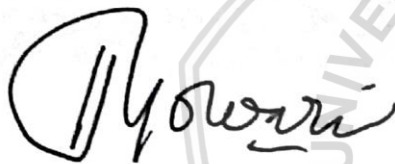
Jurusan : Hama dan Penyakit Tanaman

Program Studi : Agroekoteknologi

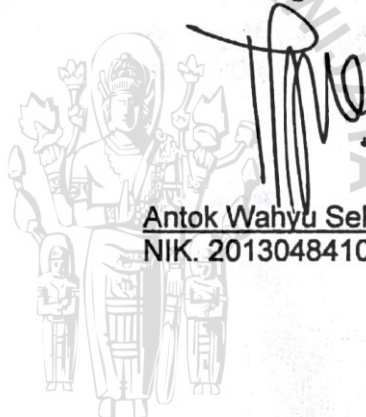
Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,



Prof. Ir. Liliek Sulityowati, Ph.D
NIP. 19551212 198003 2 003



Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013048410141001

Diketahui,
Ketua Jurusan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I


Penguji II



Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002


Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 2013 048410 14 1001

Penguji III

Penguji IV


Prof. Ir. Liliek Sulityowati, Ph.D
NIP. 19551212 198003 2 003


Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus:

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) terhadap *Sclerotium rolfsii* Penyebab Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai secara *In-vitro*” dengan baik dan tepat pada waktunya.

Dengan selesainya penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Ir. Liliek Sulityowati, Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP selaku dosen pendamping untuk penyusunan skripsi ini. Dimana Beliau telah merelakan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, bantuan, arahan serta pengetahuan kepada penulis dengan sangat baik dan peduli.
2. Kedua orangtua yang selalu memberikan doa dan dukungan tiada henti baik secara materil, moril, dan motivasi bagi penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu.
3. Gratia Tomi Bp Tambunan, Dian Kristo Tambunan dan Triadi Victor Yacob Tambunan, sebagai saudara kandung dari penulis yang turut mendoakan dan memberi semangat agar skripsi ini berjalan dengan baik sebagaimana mestinya.
4. UPT Materia Medica Batu yang telah membantu penulis dalam mendapatkan bahan simplisia untuk ekstraksi yang digunakan oleh penulis dalam penelitian.
5. Ibu Ferrida asisten Laboratorium Fakultas Kedokteran yang membantu penulis dalam memberikan ilmu dalam melakukan proses ekstraksi bahan penelitian.
6. Desi, Yohana dan Naomi (*Support system number one*) yang menemani dan selalu memberi penghiburan yang berarti bagi penulis.
7. Riyanti, Sisca, Ivone, Mira dan Yohanes yang memberi motivasi dan semangat untuk menghadapi kehidupan setelah perkuliahan agar lebih bersiap dalam menyongsong masa depan.
8. Dan tidak lupa kepada rekan-rekan mahasiswa, HPT 16, anak Laboratorium Mikologi, yang telah membantu dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini yang tidak bisa penulis ucapkan satu-persatu.

9. Xabiru Oshe Al-Hakim anak bayi yang sangat lucu yang ada di instagram, menjadi penghibur di kala merasa sedih karena skripsi bisa saja terasa seperti beban yang sangat berat.
10. Dan terkhusus untuk yang telah membantu namun tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Terimakasih karena sudah meringankan beban penulis, berbaik hati untuk menghibur, memotivasi dan memberi semangat yang begitu berarti. Semoga kasih dan penyertaan Tuhan yang membalas semua kebaikan kalian dimanapun kalian berada.

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif berupa informasi dan referensi ilmu pengetahuan tentang obyek penelitian terkait kepada seluruh pihak yang membutuhkan.

Malang, Juli 2018

Penulis



RINGKASAN

JEANNIFER TAMBUNAN. 145040200111135. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper battle* L) terhadap *Sclerotium rolfsii* penyebab Rebah Kecambah pada tanaman Kedelai. Dibawah bimbingan Prof.Ir.Lilieek. Sulistyowati, Ph.D, sebagai pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP., sebagai pembimbing pendamping.

Penyakit rebah kecambah atau *damping-off* yang disebabkan oleh jamur *Sclerotium rolfsii* menjadi salah satu penyakit penting yang terjadi pada tanaman kedelai. Salah satu jenis tanaman biofarmaka yang sering dimanfaatkan sebagai fungisida yang ramah lingkungan adalah tanaman Sirih Hijau. Tanaman Sirih Hijau berpotensi sebagai fungisida alami karena memiliki kandungan minyak atsiri sampai 4,2%, senyawa fenil propanoid, yang bersifat toksik dan memiliki sifat anti jamur yang kuat. Tujuan penelitian ini ialah mengetahui efektivitas dan konsentrasi yang tepat dari ekstrak murni daun Sirih Hijau dalam menekan pertumbuhan jamur patogen *S.rolfsii* secara *in-vitro*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Januari hingga Mei 2018. Sampel tanaman yang terserang penyakit diambil dari kebun Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Tanaman Umbi (BALITKABI) Malang, Jawa Timur. Penelitian terdiri dari dua unit percobaan. Percobaan pertama merupakan isolasi dan identifikasi patogen tanaman. Percobaan kedua yaitu uji toksisitas hasil ekstrak murni daun Sirih Hijau terhadap patogen *S. rolfsii*. Uji toksisitas ekstrak terhadap patogen dilakukan dengan menggunakan beberapa jenis konsentrasi yang berbeda sebagai perlakuan. Perbedaan konsentrasi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dalam menekan pertumbuhan jamur. Variabel pengamatan pada penelitian meliputi hasil identifikasi patogen jamur dengan mengamati kenampakan secara makroskopis dan mikroskopis, serta presentase daya hambat ekstrak pada pertumbuhan koloni jamur.

Hasil isolasi jamur *S. rolfsii* pada tanaman bergejala memiliki penampakan makroskopis berwarna putih, miselia memiliki bentuk seperti benang dan halus. Sembilan hari setelah purifikasi patogen membentuk sklerotia. Sklerotia memiliki bentuk bulat dan licin, awalnya berwarna cokelat kemudian berwarna coklat gelap mendekati hitam. Secara mikroskopis jamur patogen *S. rolfsii* tidak menghasilkan spora ataupun konidia, melainkan memiliki hubungan klan. Uji toksisitas menunjukkan hasil yang berbeda pada konsentrasi perlakuan. Cairan hasil ekstrak murni/maserat minyak daun Sirih Hijau (*Piper battle* L) dengan menggunakan pelarut methanol 70% mampu untuk menekan pertumbuhan dari patogen jamur penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai yakni *S. rolfsii*. Konsentrasi yang efektif dalam menekan pertumbuhan patogen secara berurut berada pada konsentrasi 8% dan 10%. Pertumbuhan yang terhambat tampak dari perbedaan diameter koloni jamur dan persentase daya hambat. Semakin tinggi uji daya hambat maka semakin kecil diameter koloni pertumbuhan jamur patogen.

SUMMARY

JEANNIFER TAMBUNAN. 145040200111135. Toxicity Test of Green Betle Leaf Extract (*Piper betle* L) on *Sclerotium rolfsii* as Causal Agent of Soybean Damping-off in Vitro Study. Supervised by Prof. Ir. Liliek. Sulistyowati, Ph.D, and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Damping-off caused by *Sclerotium rolfsii* fungi is one of the important diseases that occur in soybean plants. One type of biopharmaca plant that is often used as an environmentally friendly fungicide is the Green Betel. Green Betel has the potential as a natural fungicide because it has an essential oil content of up to 4.2%, phenyl propanoid compounds, which are toxic and have strong antifungal properties. The purpose of this research was to determine the effectiveness and proper concentration of pure extract of green betel leaf in suppressing the growth of *S.rolfsii* pathogenic fungi in vitro.

The study was conducted at the Laboratory of Plant Disease, Faculty of Agriculture and Pharmacology Laboratory, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang. When the study was conducted from January to May 2018. Samples of plants that were attacked by the disease were taken from the garden of the Indonesian Nuts and Seed Crops Research Institute (BALITKABI) Malang, East Java. Research uses survey methods, isolation of plant pathogens, extraction and toxicity testing. The study consisted of two experimental units. The first experiment was the isolation and identification of plant pathogens. The second experiment was the toxicity test of the pure extract leaves against *S. rolfsii*. The toxicity test of extracts against pathogen was carried out using several different types of concentrations as treatment. The concentration difference aims to determine the concentration that is effective in suppressing fungal growth. Observation variables in the study included the results of identification of fungal pathogens by observing macroscopic and microscopic appearance, as well as the percentage of inhibitory effect on fungal colony growth.

The results of the isolation of *S. rolfsii* fungi in symptomatic plants have white macroscopic appearance, mycelia has a thread-like shape and is smooth. Nine days after purification of the pathogen to form sclerotia. Sclerotia has a round and slippery shape, initially brown then dark brown close to black. Microscopically, *S. rolfsii* pathogenic fungi do not produce spores or conidia, but have clan relationships. Toxicity tests showed different results in treatment concentration. The liquid are produced from *Piper battle* L pure /masatat oil extract using 70% methanol solvent was able to suppress the growth of the fungal pathogens causing the sprouts to fall on the soybean plant. The higher concentration has a better inhibitory test value. Effective concentrations in suppressing the growth of pathogens are in concentrations of 8% and 10%. Obstructed growth can be seen from the difference in diameter of the mushroom colony and the percentage of inhibitory power. The higher the inhibitory test, the smaller the diameter of pathogenic fungal growth colonies.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pangururan (Kabupaten Samosir, Sumatera Utara) pada tanggal 29 Januari 1997 sebagai anak ke empat dari Bapak Drs. S. Ganda Tambunan dan Ibu Nurmina Manurung, S. Pd. Penulis mempunyai tiga saudara kandung laki-laki. Gratia Tomi Bp Tambunan, Dian Kristo Tambunan dan Triadi V Y Tambunan.

Penulis menempuh pendidikan sekolah dasar di SD Negeri Nomor 173739 Pangururan, Kabupaten Samosir (2002-2008). Kemudian penulis melanjutkan pendidikan ke SMP Negeri 1 Pangururan (2008-2011), dan melanjutkan pendidikan ke SMA RK Budi Mulia Pematangsiantar (2011- 2014). Penulis selanjutnya menjadi mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya (2014) melalui jalur SBMPTN dan terdaftar sebagai mahasiswa Minat Perlindungan Tanaman (2016/2017) Laboratorium Mikologi Penyakit Tanaman.

Selama menjadi mahasiswa Fakultas Pertanian, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Ilmu Penyakit Tanaman (2017/2018) dan Mikologi (2017/2018). Penulis pernah melakukan kegiatan magang kerja sebagai salah satu kewajiban akademik selama tiga bulan di SMART Research Institute (SINAR MAS) Libo - Pekanbaru pada bulan Juli – September 2017.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
RINGKASAN	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesis.....	2
1.4 Tujuan.....	2
1.5 Manfaat Penelitian.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Tanaman Kedelai	3
2.2 Penyakit Penting pada Tanaman Kedelai	6
2.3 Penyakit Rebah Kecambah.....	10
2.4 Fungisida Nabati	14
2.5 Ekstrak Daun Sirih	14
III. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	19
3.4 Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih terhadap Patogen penyebab Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai	21
3.5 Perhitungan Rendemen Ekstrak	24
3.6 Analisis Data.....	24
IV. PEMBAHASAN	25
4.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	25
4.2 Karakteristik Hasil Ekstraksi Daun Sirih	27
4.3 Pengujian Ekstrak Daun Sirih Hijau Terhadap Pertumbuhan Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i> secara <i>In-vitro</i>	30

4.3.1	Diameter Koloni Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	
4.3.2	Persentase Penghambatan Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i> terhadap Ekstrak Daun Sirih Hijau pada Media.	34
V.	PENUTUP	37
5.1	Kesimpulan	37
5.2	Saran	37
	DAFTAR PUSTAKA	38
	LAMPIRAN	41



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Komposisi Kimia Daun Sirih Segar per 100 gram	16
2.	Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau	32
3.	Rerata pertumbuhan Diameter Koloni Jamur <i>Sclerotium rolfsii</i>	33
4.	Rerata persentase Penghambatan Koloni Jamur <i>S. rolfsii</i>	36

LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 1 hsi	43
2.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 2 hsi	43
3.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 3 hsi	43
4.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 4 hsi	43
5.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 5 hsi	43
6.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 6 hsi	44
7.	Analisis ragam diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> 7 hsi	44
8.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 1 hsi	45
9.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 2 hsi	45
10.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 3 hsi	45
11.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 4 hsi	45
12.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 5 hsi	46
13.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 6 hsi	46
14.	Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur <i>S.rolfsii</i> 7 hsi	46

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tanaman Kedelai	4
2.	Gejala penyakit Karat pada tanaman Kedelai.....	7
3.	Infeksi <i>Rhizoctonia solani</i> pada tanaman Kedelai.....	8
4.	Infeksi <i>Fusarium</i>	8
5.	Gejala penyakit Embun Palsu pada tanaman Kedelai	9
6.	Gejala penyakit Antraknosa pada tanaman Kedelai	10
7.	Gejala penyakit Rebah Kecambah pada tanaman Kedelai	11
8.	Sklerotia <i>Sclerotium rolfsii</i> pada media buatan	12
9.	Tanaman Sirih Hijau	15
10.	Pola perhitungan diameter koloni jamur	25
11.	Makroskopis jamur <i>S.rolfsii</i> hasil purifikasi	27
12.	Sklerotia pada isolai <i>S.rolfsii</i>	28
13.	Mikroskopis jamur <i>S.rolfsii</i>	29
14.	Serbuk daun Sirih Hijau yang sudah diberi pelarut Methanol 70%	30
15.	Hasil ekstrak murni daun Sirih Hijau	31
16.	Pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i> pada perlakuan	34
17.	Rerata laju pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S.rolfsii</i>	35
18.	Koloni jamur <i>S. rolfsii</i> pada perlakuan dengan konsentrasi 2% 3 hsi	36
19.	Rerata persentase penghambatan jamur <i>S.rolfsii</i>	37

LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 1 hsi.....	47
2.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 2 hsi.....	47
3.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 3 hsi.....	47
4.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 4 hsi.....	47
5.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 5 hsi.....	48
6.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfsii</i> 6 hsi.....	48

7.	Grafik Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur <i>S. rolfii</i> 7 hsi.....	48
8.	Kunci Determinasi tanaman Sirih Hijau.....	50
9.	Dokumentasi Penelitian.....	51



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit rebah kecambah atau *damping-off* yang disebabkan oleh jamur *Sclerotium rolfsii* merupakan salah satu penyakit penting yang mampu menginfeksi tanaman kedelai setelah karat daun sebagai penyakit utama (yang disebabkan oleh patogen jamur pada tanaman kedelai). Pengendalian penyakit tular tanah pada umumnya disesuaikan dengan cara bertahan hidup jamur. Teknik pengendalian penyakit yang dapat diterapkan pada penyakit *S. rolfsii* adalah aplikasi mikroorganisme antagonisnya, penggunaan varietas tahan, dan cara mekanis (Sumartini, 2011). Pengendalian dengan fungisida kimiawi tidak tepat karena penggunaannya membutuhkan perlakuan yang sering dan sesuai dengan sifat tanah yang menyerap, selain itu fungisida juga dapat mencemari lingkungan dan mematikan musuh alami dan mikroorganisme pendegradasi senyawa kimia beracun dan meninggalkan residu yang bersifat toksik bagi lingkungan dan manusia

Pemanfaatan tanaman sirih untuk menjadi bahan mentah biofarmaka, sudah lama diketahui masyarakat Indonesia karena tanaman ini dapat tumbuh dengan baik di Indonesia. Salah satu jenis tanaman Sirih yang sering digunakan adalah tanaman Sirih Hijau. Tanaman Sirih Hijau berpotensi sebagai fungisida alami karena memiliki kandungan minyak atsiri sampai 4,2%, senyawa fenil propanoid, dan tannin yang bersifat toksik. Senyawa atsiri yang terkandung dalam tanaman Sirih Hijau bersifat antimikroba dan anti jamur yang kuat (Agusta, 2000). Berbagai penelitian dalam pemanfaatan ekstrak daun Sirih Hijau sebelumnya sudah pernah dilakukan. Ekstrak murni daun Sirih Hijau diketahui dapat menjadi pengendali patogen. Hasil penelitian Koesmiati (1966) menunjukkan bahwa 82,8% komponen penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari senyawa-senyawa fenol, dan hanya 18,2% senyawa bukan fenol. Kandungan minyak atsiri dalam daun Sirih Hijau memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan beberapa jenis jamur patogen seperti *Fusarium oxysporum*, dan *Colletotrichum fragariae*. Minyak atsiri mampu menekan pertumbuhan koloni jamur pada media perbanyakan skala laboratorium dengan cara melisis dinding sel jamur patogen. Senyawa anti bakteri dalam ekstrak dapat bersifat bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal (Fardiaz, 2002).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas fungisida alami dari ekstrak daun sirih yang bersifat ramah lingkungan terhadap pengendalian patogen jamur *S. rolfsii* pada tanaman kedelai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengurangi penggunaan fungisida kimiawi dalam skala luas. Karena penggunaan fungisida kimiawi untuk pengendalian patogen tanaman akan meninggalkan residu yang bersifat racun (toksik) pada lingkungan dan tidak berkelanjutan.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak daun sirih dapat menekan pertumbuhan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai secara *in vitro*?
- b. Berapakah konsentrasi ekstrak daun sirih yang efektif dalam menekan pertumbuhan patogen penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai dalam uji toksisitas?

1.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak murni daun sirih dapat menekan pertumbuhan patogen penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1.4 Tujuan

- a. Mengkaji pengaruh ekstrak daun sirih dalam menekan pertumbuhan patogen penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai
- b. Mengkaji konsentrasi ekstrak daun sirih yang sesuai untuk menekan pertumbuhan patogen penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan ilmu pengetahuan atau informasi tentang patogen penyebab penyakit rebah kecambah yang dapat menyebabkan kerugian baik secara kualitas maupun kuantitas pada tanaman kedelai, dan ekstrak tanaman bersifat ramah lingkungan yang dapat mengendalikannya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai merupakan salah satu komoditas tanaman pangan yang sangat dibutuhkan oleh penduduk Indonesia dan dipandang penting karena sebagai sumber protein, nabati, lemak, vitamin dan mineral yang murah dan mudah untuk didapatkan. Sebagai bahan makanan kedelai mempunyai kandungan gizi yang tinggi terutama protein (40%), lemak (20%), karbohidrat (35%) dan air (8%) (Suprpto, 1999).



Gambar 1. Tanaman Kedelai (Sumber : Litbang Pertanian Sulsel, 2012)

Kedelai merupakan tanaman dikotil semusim dengan percabangan sedikit, sistem perakaran akar tunggang, dan batang berkambium. Kedelai dapat berubah penampilan menjadi tumbuhan setengah merambat dalam keadaan pencahayaan rendah (Rukmana dan Yuniarsih (1996). Menurut Acquaah (2008), sistematika tumbuhan tanaman kedelai adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: Glycine
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill

Kacang kedelai termasuk famili Leguminosae (kacang-kacangan) dan memiliki bintil-bintil akar yang mengandung berupa koloni bakteri *Rhizobium*

japonicum. Bintil akar akan terbentuk sekitar 15—20 hari setelah tanam (Suprpto, 2001).

2.1.1 Morfologi Tanaman Kedelai

a. Akar

Pada proses perkecambahan tanaman kedelai, bagian akar akan mulai muncul dari belahan kulit biji di sekitar mesofil pada 10-20 hari setelah penanaman. Calon akar tersebut kemudian tumbuh dengan cepat ke dalam tanah, sedangkan kotiledon yang terdiri dari dua keping akan terangkat ke permukaan tanah akibat pertumbuhan yang cepat dari hipokotil. Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Kedelai juga sering kali membentuk akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Pada umumnya, akar adventif terjadi karena cekaman tertentu misalnya kadar air tanah yang terlalu tinggi (Adisarwanto, 2008). Untuk memperluas permukaan kontakannya dalam menyerap unsur hara, akar juga membentuk bulu-bulu akar. Bulu akar merupakan penonjolan dari sel-sel epidermis akar. Pada akar terdapat bintil-bintil akar yang berkoloni dari bakteri *Rhizobium japonicum* yang terbentuk di akar, yang dapat mengikat N, bersimbiosa dengan tanaman (Suprpto, 1999).

b. Batang

Hipokotil yang berkembang pada proses perkecambahan, menjadi bagian batang pada tanaman kedelai yang dimulai dari pangkal akar sampai kotiledon. Batang tanaman kedelai berasal dari poros embrio yang terdapat pada biji masak. Hipokotil merupakan bagian terpenting pada poros embrio, yang berbatasan dengan bagian ujung bawah permulaan akar yang menyusun bagian kecil dari poros bakal akar hipokotil. Bagian atas poros embrio berakhir pada epikotil yang terdiri dari dua daun sederhana yaitu primordia daun bertiga pertama dan ujung batang (Sumarno et al., 2007). Batang kedelai yang masih muda setelah perkecambahan menurut AAK (2002) dibedakan menjadi dua bagian yaitu hipokotil dan epikotil. Pertumbuhan batang kedelai dibedakan menjadi dua tipe, yaitu tipe determinate dan indeterminate. Perbedaan sistem pertumbuhan batang ini didasarkan atas keberadaan bunga pada pucuk batang.

c. Daun

Tanaman kedelai mempunyai dua bentuk daun yang dominan, yaitu stadia kotiledon yang tumbuh saat tanaman masih berbentuk kecambah dengan dua helai daun tunggal dan daun bertangkai tiga (trifoliolate leaves) yang tumbuh selepas masa pertumbuhan (Sumarno et al., 2007). Terdapat bulu pada permukaan daun tanaman kedelai yang merupakan modifikasi dari sel epidermis daun. Jumlah bulu pada daun tanaman kedelai tidak sama tergantung pada varietasnya. Lebat-tipisnya bulu pada daun kedelai berkait dengan tingkat toleransi varietas kedelai terhadap serangan jenis hama tertentu. Hama penggerek polong ternyata sangat jarang menyerang varietas kedelai yang berbulu lebat. Oleh karena itu, para peneliti pemulia tanaman kedelai cenderung menekankan pada pembentukan varietas yang tahan hama harus mempunyai bulu di daun, polong, maupun batang tanaman kedelai (Adisarwanto, 2008).

d. Bunga

Seperti tanaman pada umumnya, terdapat dua fase perkembangan pada tanaman kedelai yaitu fase vegetative dan generative. Fase generative diawali dengan munculnya bunga pada tanaman kedelai. Bunga tanaman kedelai umumnya muncul atau tumbuh di ketiak daun. Bunga kedelai termasuk sempurna karena pada setiap bunga memiliki alat reproduksi jantan dan betina. Penyerbukan bunga terjadi pada saat bunga masih tertutup sehingga kemungkinan penyerbukan silang sangat kecil yaitu hanya 0,1%. Warna bunga kedelai ada yang ungu dan putih. Potensi jumlah bunga yang terbentuk bervariasi tergantung dari varietas kedelai, tetapi umumnya berkisar 40—200 bunga per tanaman (Adisarwanto, 2008).

e. Polong dan Biji

Polong kedelai pertama kali muncul sekitar 10—14 hari masa pertumbuhan yakni setelah bunga pertama muncul. Warna polong yang baru tumbuh berwarna hijau dan selanjutnya akan berubah menjadi kuning atau coklat pada saat dipanen. Pembentukan dan pembesaran polong akan meningkat sejalan dengan bertambahnya umur dan jumlah bunga yang terbentuk. Jumlah polong yang terbentuk beragam berkisar 2—10 polong pada setiap kelompok bunga di ketiak daunnya. Sementara jumlah polong yang dapat dipanen berkisar 20—200 polong per tanaman, tergantung dari varietas kedelai yang ditanam dan dukungan kondisi

lingkungan tumbuh. Warna polong masak dan ukuran biji antara posisi polong paling bawah dan paling atas akan sama selama periode pemasakan polong optimal berkisar 50—75 hari. Periode waktu tersebut dianggap optimal untuk proses pengisian biji dalam polong yang terletak di sekitar pucuk tanaman (Adisarwanto, 2008).

2.2 Penyakit Penting pada Tanaman Kedelai

Menurut Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi Litbang Pertanian (2017) berikut akan dijelaskan jenis penyakit penting pada tanaman Kedelai :

1. Penyakit Karat

Penyakit karat pada tanaman Kedelai disebabkan oleh jamur *Phakopsora pachyrhizi*. Di Indonesia, penyakit karat terdapat di sentra produksi kedelai di Sumatera, Jawa, Bali, Nusa Tenggara Barat, Kalimantan, dan Sulawesi (Semangun 1991). Kehilangan hasil akibat penyakit karat di Indonesia mencapai 90% (Sudjono et al. 1985), dan di Thailand sekitar 10–40% pada varietas lokal, dan di Taiwan 23–50% (Sinclair dan Shurtleff 1980).

Gejala awal penyakit karat pada kedelai ditandai dengan munculnya bercak klorotik kecil yang tidak beraturan pada permukaan daun. Pada umumnya gejala karat muncul pada permukaan bawah daun. Bercak tersebut kemudian berubah menjadi coklat atau coklat tua dan membentuk pustul. Penyakit karat menyebabkan daun menjadi kering dan rontok sebelum waktunya. Stadium awal penyakit karat mungkin tidak dapat dibedakan dengan pustul bakteri atau embun bulu (downy mildew) (Sumartini, 2010).



Gambar 2. Gejala Karat pada permukaan bawah daun (a) (Sumber : Sumartini, 2009) ; Bercak pustul pada daun (b) (Sumber : World Intellectual Property Organization 2008)

Epidemi penyakit didorong oleh panjangnya waktu daun dalam kondisi basah dengan temperatur kurang dari 280 C. Perkecambahan spora dan penetrasi spora membutuhkan air bebas dan terjadi pada suhu 8-280 C. uredia muncul 9-10 hari setelah infeksi, dan urediospora diproduksi setelah 3 minggu. Kondisi lembab yang panjang dan periode dingin dibutuhkan untuk menginfeksi daun-daun dan sporulasi. Penyebaran urediniospora dibantu oleh hembusan angin pada waktu hujan. Patogen ini tidak ditularkan melalui benih.

2. Busuk Akar (hawar jaring *rhizoctonia*)

Penyakit busuk akar (hawar jaring) disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*. Jamur ini dapat menginfeksi kecambah pada bagian yang berada di bawah permukaan tanah dan menyebabkan kecambah mati. Gejala pada kecambah berupa bercak coklat hingga kemerahan pada pangkal batang dan akar. Jamur juga menginfeksi tanaman dewasa pada bagian akar, daun, batang, dan polong. Patogen berkembang hingga menyebabkan batang keriput sehingga tanaman mati (Semangun, 1991).

Pada tanaman dewasa, cuaca sangat lembab mengakibatkan jamur membentuk benang-benang seperti sarang laba-laba sehingga terbentuk ikatan antar daun (web blight). Perkembangan penyakit. Perkembangan patogen umumnya terjadi pada tanah yang hangat, dan tanah pasir yang lembab. Suhu optimum bagi perkembangan patogen adalah 28-32°C. Pada suhu tersebut, penyakit lebih cepat berkembang. Infeksi patogen dan tingkat keparahan penyakit meningkat pada tanah yang lembab dan kaya nitrogen (N). Patogen dapat bertahan hidup pada bahan organik dengan cara membentuk sklerotia.



Gambar 3. Infeksi *Rhizoctonia solani* pada kecambah (a) (Sumber : ipm.illinois.edu) ; Infeksi *Rhizoctonia solani* menyebabkan hawar pada daun (b)

3. Hawar Semai *Fusarium*

Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *glycine*. Serangan penyakit pada fase perkecambahan menyebabkan kecambah rebah dan bahkan mati. Serangan pada tanaman dewasa menyebabkan tanaman layu, busuk akar samping, tudung akar, dan pangkal batang tanaman. Penularan penyakit dapat melalui air, alat pertanian, dan tanah.



Gambar 4. Infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *glycine* pada fase kecambah (Sumber: extension.umn.edu)

Patogen dapat bertahan hidup meskipun tidak ada tanaman dengan membentuk kladospora (struktur tahan) dan miselium di dalam tanah. Jamur menghasilkan mikrokonidia, makrokonidia, dan kladospora. Perkembangan penyakit. Tanah yang jenuh air, suhu lingkungan 27-31°C, kandungan bahan organik dan nitrogen yang tinggi sangat sesuai bagi perkembangan jamur. Umumnya penyakit ini muncul bersama-sama dengan penyakit lain, seperti busuk akar *Rhizoctonia* dan nematoda cist kedelai.

4. Embun tepung (*Powdery mildew*)

Penyakit embun tepung disebabkan oleh jamur *Microsphaera diffusa*. Gejala khas terlihat pada permukaan daun, yaitu adanya tepung putih yang menyebar merata. Warna putih pada permukaan daun bagian atas maupun bawah merupakan kumpulan miselium dan spora jamur. Serangan yang parah menyebabkan seluruh permukaan daun tertutup oleh tepung putih kemudian menjalar ke batang, tangkai daun, polong, daun berwarna kuning dan kemudian gugur. Perkembangan penyakit. Patogen berkembang pada musim kemarau pada suhu yang lebih dingin (18,3-23,8°C) dari kondisi normal. Patogen menyebar

dengan bantuan angin. Spora dapat bertahan pada sisa-sisa tanaman dan gulma di sekitar pertanaman

5. Embun palsu (*Downy mildew*)

Penyakit embun palsu disebabkan oleh jamur *Peronospora manshurica*. Gejala awal ditandai munculnya bintik kuning kehijauan pada permukaan daun bagian atas, kemudian menjadi abu-abu hingga coklat gelap dengan lingkaran berwarna kuning hijau.



Gambar 5. Gejala penyakit embun palsu pada permukaan daun (a) ; Infeksi patogen *Peronospora manshurica* pada biji (b) (Sumber: extension.argon.iastate.edu)

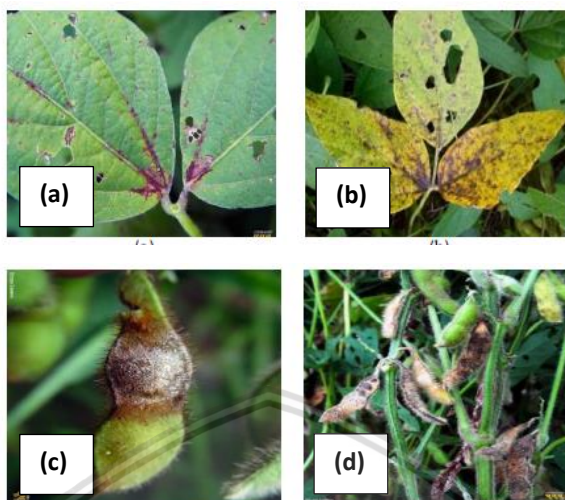
Kemunculan penyakit ini sulit diprediksi karena perkembangan patogen membutuhkan suhu dingin dan kelembaban rendah. Pada akhir musim hujan cendawan dalam bentuk oospora menginfeksi daun maupun biji. Oospora yang menginfeksi biji merupakan sumber inokulum yang potensial bagi perkembangan patogen di lapangan. Patogen ini mempunyai inang terutama dari genus *Glycine* seperti *G. hispida*, dan *G. Soja*.

6. Antraknosa

Penyebab penyakit adalah *Colletotrichum dematium* var. *truncatum*. Patogen menginfeksi daun, tangkai daun, batang, dan polong (Gambar 9). Infeksi pada biji menyebabkan kotiledon terlihat cekung, bercak coklat tua dan berkembang ke batang tanaman. Gejala pada batang, polong, dan tangkai kedelai berupa bercak tak beraturan. Jaringan tanaman yang terinfeksi tertutup oleh badan buah (acervuli) yang berduri kecil (setae), berwarna hitam. Infeksi pada fase pembentukan hingga pemasakan polong menyebabkan biji mengkerut dan berwarna coklat gelap.

Perkembangan penyakit. Cuaca hangat dan lembab dengan suhu 26-32°C sangat sesuai bagi perkembangan penyakit. Daun yang selalu basah karena embun atau air hujan mendukung perkecambahan spora. Jamur dapat bertahan hidup lebih

dari tiga bulan pada batang tanaman di lapang. Patogen mempunyai tanaman inang sangat banyak, antara lain kacang gude, kacang tanah, putri malu, dan terong.



Gambar 6. Gejala penyakit antraknosa pada daun (a), gejala lanjut antraknosa pada daun (b), infeksi patogen *Colletotrichum dematium* var. *truncatum* pada polong (c dan d) (<http://www.agrolink.com.br>).

2.3 Penyakit Rebah Kecambah

Penyakit rebah kecambah merupakan salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh jamur *Sclerotium rolfsii* pada tanaman kedelai. Penyakit ini sangat merugikan karena mampu menurunkan hasil produksi baik dari segi kualitas ataupun kuantitas. Infeksi *S. rolfsii* pada kedelai biasanya mulai terjadi di awal pertumbuhan tanaman dan akan menyerang pada bagian pangkal batang. Gejala yang dapat diamati adalah terdapatnya busuk kecambah atau rebah kecambah.

Pada tanaman kedelai berumur lebih dari 2-3 minggu, gejalanya berupa busuk pangkal batang dan layu pada bagian yang terinfeksi, terlihat bercak berwarna coklat pucat dan di bagian tersebut tumbuh miselia jamur berwarna putih. Miselia jamur yang berwarna putih berbentuk seperti bulu, yang kemudian membentuk butir-butir bulat atau jorong (sclerotia), mula-mula berwarna putih kemudian akhirnya berwarna coklat (Semangun, 1993). Pangkal batang pada tanaman yang terserang penyakit akan membusuk, sehingga penyakit ini sering juga disebut penyakit busuk pangkal batang. *S. rolfsii* dapat menyerang kecambah atau semai. Dalam keadaan yang sangat lembab cendawan juga dapat menyerang daun, tangkai dan polong (Semangun 2004). Serangan parah sering terjadi pada musim hujan, yang menyebabkan seluruh tanaman di suatu area menjadi layu dan gagal panen.



Gambar 7. Gejala Rebah Kecambah pada tanaman Kedelai (Sumber : Sumartini, 2011)

Menurut Semangun (1991), klasifikasi cendawan *S. rolfsii* penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kedelai adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Fungi
Divisi	: Basidiomycota
Kelas	: Basidiomycetes
Ordo	: Agaricales
Famili	: Typhulaceae
Genus	: Sclerotium
Spesies	: <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.

Morfologi *Sclerotium rolfsii*

Jamur *S. rolfsii* memiliki koloni yang dapat tumbuh dengan cepat dengan diameter mencapai 9 cm setelah tiga hari di media pada suhu 23° C. Miselium yang tumbuh berbentuk seperti benang halus yang berwarna putih, tersusun seperti bulu atau kapas. Hifa primer konduktif dengan lebar 4,5 – 9 μ m rapat dan bersekat. Hifa sekunder dan tersier lebih sempit dengan lebar 1,5-2 μ m umumnya tidak rapat.

Di daerah tropis *S. rolfsii* tidak membentuk spora. Jamur dapat bertahan lama dengan hidup secara saprofit dan dalam bentuk sclerotium yang tahan terhadap keadaan yang kurang baik. Di dalam tanah, sclerotium jamur dapat bertahan selama 5 tahun bahkan mungkin lebih (Semangun, 1993). Sclerotium berfungsi sebagai pemencaran (invasi) dan untuk mempertahankan diri pada kondisi ekstrim. Sklerotium yang terbentuk semula berwarna putih, kemudian berubah menjadi coklat dengan garis tengah kurang lebih 1mm. Butir-butir ini mudah sekali lepas dan tersangkut air (Semangun 2004).

Sklerotium mempunyai kulit yang kuat sehingga tahan terhadap suhu tinggi, kekurangan ketersediaan nutrisi dan kekeringan. Di dalam tanah sklerotium dapat bertahan sampai 6 - 7 tahun. Dalam cuaca yang kering sklerotium dapat mengeriput, tetapi ini justru akan berkecambah dengan cepat jika kembali berada di lingkungan yang lembab (Semangun 1993). Kelembaban tinggi diperlukan untuk pertumbuhan sklerotia secara optimal. Sklerotia gagal berkecambah ketika kelembaban relatif jauh di bawah saturasi. Namun, ada beberapa penelitian yang menegaskan bahwa sklerotia berkecambah secara maksimal pada suhu 25 - 35% (Semangun 1993).



Gambar 8. Sklerotia *Sclerotium rolfsii* pada media buatan (a) dilihat dari jarak dekat (b) (Sumber : Fichtner, 2010)

2.3.1 Penyebaran dan faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat serangan

Sclerotium rolfsii

Jamur *S. rolfsii* memiliki distribusi yang sangat luas umumnya terdapat pada daerah yang beriklim tropis dan subtropics atau daerah yang memiliki temperature hangat khususnya Amerika Serikat bagian selatan, Amerika Tengah, India Barat, Afrika, Italia, Iran, Jepang, Malaysia, Srilanka, Taiwan, Indonesia, Libanon, Nigeria dan Bangladesh (Tu dan Kimbrough, 2001).

Intensitas serangan *S. rolfsii* pada jaringan inang dipengaruhi oleh pertumbuhan miselium, produksi sclerotia dan lamanya sclerotia berkecambah. Faktor yang mempengaruhi tingkat serangan *S. rolfsii* adalah :

a. Suhu dan Kelembaban Tanah

Menurut Tu dan Kimbrough (1978), suhu optimal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *S. rolfsii* adalah 23-30°C, suhu minimum 8°C dan suhu maksimal yang diperlukan jamur *S. rolfsii* untuk dapat tumbuh normal adalah pada suhu 32°C. Ferreira dan Boley (1992) menyatakan bahwa pertumbuhan optimum miselium *S.*

rolfsii berkisar antara suhu 25-35°C dan tidak bisa tumbuh atau tumbuh kecil pada suhu 10 atau 40°C. Pembentukan sclerotia terjadi pada suhu optimum pertumbuhan miselium. Miselium tidak dapat tumbuh pada suhu 0°C tetapi sclerotia dapat bertahan sampai pada suhu -10°C. Sedangkan kelembaban tanah untuk perkecambahan sclerotia yang tinggi berkisar antara 25-35% (Tu dan Kimbrough, 1978). Pada musim kemarau dengan kelembaban yang tinggi dapat memberikan keadaan yang kondusif bagi *S. rolfsii* untuk dapat menyebabkan kerusakan pada tanaman inangnya.

b. Aerasi Tanah

Jamur *S. rolfsii* dapat membentuk sclerotium apabila kandungan oksigen 15% dan kandungan karbon dioksida kurang dari 4%, untuk perkecambahan sclerotia membutuhkan konsentrasi oksigen diatas 60% dan konsentrasi karbondioksida dibawah 10% (Tu dan Kimbrough, 1978).

c. pH Tanah

Menurut Ferreira dan Boley (1992), pH tanah untuk pertumbuhan miselia yang baik yaitu 3-5 dan untuk perkecambahan sclerotia terjadi antara pH 2-5, perkecambahan akan terhambat pada pH diatas 7. Sedangkan Tu dan Kimbrough (1978), menyatakan bahwa pH optimal untuk pertumbuhan *S. rolfsii* berkisar antara 3,5-6,5, perkecambahan sclerotia pHnya tidak lebih dari 10, apabila lebih maka akan terlambat.

d. Kedalaman sclerotia terpendam di dalam tanah

Menurut Tu dan Kimbrough (1978), apabila sclerotia terpendam di dalam tanah lebih dari 15cm dari permukaan tanah biasanya tidak dapat berkecambah. Miselium dari patogen ini dapat diisolasi pada kedalaman 10 cm dari permukaan tanah, sedangkan sklerotianya dapat ditemukan tidak lebih 15 cm dari permukaan tanah.

2.3.2 Epidemiologi *Sclerotium rolfsii*

Miselium *S. rolfsii* dapat bertahan pada musim dingin dalam jaringan tanaman yang terinfeksi dan pada tanaman mati. *S. rolfsii* biasanya akan tetap membentuk sclerotia dan dapat tersebar pada tanah, alat-alat pertanian, biji tanaman yang sudah terinfeksi dan terutama pada air irigasi (Ferreira dan Boley, 1992).

2.3.3 Teknik Pengendalian *Sclerotium rolfsii*

Pengendalian *S. rolfsii* dapat dilakukan dengan perpaduan antara teknik budidaya, pengendalian hayati dan pengendalian secara kimiawi (Ferreira dan Boley, 1992). Semangun (2006) menambahkan penyakit ini dapat dikurangi dengan penggarapan tanah yang lebih baik, perbaikan drainase dan penanaman dengan jarak tanam yang lebih lebar dan penggunaan varietas tahan. Untuk penggunaan mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan patogen atau yang bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii* adalah *Bacillus subtilis*, *Gliocladium virens*, *Penicilium*, *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma viride*. (Semangun, 2006).

2.4 Fungisida Nabati

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman biodiversitas tinggi, khususnya pada tumbuhan. Indonesia memiliki lebih dari 350.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi yang dapat menghasilkan berbagai produk yang bermanfaat bagi manusia. Jenis tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan jumlah 100.000 dari 1.000.000 jenis senyawa kimia. Senyawa kimia tersebut memiliki fungsi adaptif sebagai pertahanan diri, symbiosis, polinasi dan lain-lain (Sujardi, 2005)

Pemanfaatan tumbuhan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif penggunaan fungisida sintetik yang sering disebut dengan Fungisida Nabati atau biofungisida yang ramah lingkungan (Kardinan, 2002), karena mudah terdegradasi sehingga tidak menimbulkan residu yang bersifat toksis/racun bagi lingkungan (Hamijaya, 2005). Keefektifan suatu fungisida tergantung dari daya larutnya, sehingga dapat dengan mudah diserap oleh patogen dan mempengaruhi kelangsungan hidupnya. Untuk melindungi bagian dari tanaman maka fungisida tersebut harus dapat menutupi dan terbagi rata serta dapat melekat dengan baik pada permukaan yang dilindunginya. Selain itu fungisida tersebut harus bersifat toksik terhadap patogen, tetapi tidak bersifat toksik bagi tanaman dan lingkungan.

2.5 Ekstrak Daun Sirih

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan tanaman terna (berbatang lunak) yang tumbuh merambat atau menjalar menyerupai tanaman lada. Batang sirih berwarna

cokelat kehijauan, berbentuk bulat, berkerut, dan beruas yang merupakan tempat keluarnya akar. Morfologi daun sirih berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai, teksturnya agak kasar jika diraba, dan mengeluarkan bau khas aromatis jika diremas. Panjang daun 6-17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm. Tanaman sirih memiliki akar tunggang yang bentuknya bulat dan berwarna cokelat kekuningan. Sirih bisa tumbuh subur di daerah tropis dengan ketinggian 300-1.000 m di atas permukaan laut (dpl) dan tumbuh subur pada tanah yang kaya akan zat organik dan cukup air. Kandungan minyak atsiri dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti suhu udara, kelembaban, komposisi mineral dan kandungan air pada tempat tumbuh (Koensoemardiyah, 2010).



Gambar 9. Tanaman Sirih (*Piper betle* Linn.) (Pradhan et al., 2013)

Tumbuhan sirih (*P. betle* Linn.) memerlukan iklim sejuk dan kelembapan tinggi untuk kehidupannya, dimana apabila tanaman sirih dipaparkan pada panas yang ekstrem, daunnya akan berubah menjadi hijau tua dan renyah. Pada iklim sejuk daun sirih akan berwarna hijau muda (Reijntjes dkk., 1999)

2.5.1 Kandungan Ekstrak Daun Sirih

Daun sirih memiliki kandungan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, fenol dan steroid (Mursito, 2003 ; Srisadono, 2008). Pada tanaman, minyak atsiri mempunyai tiga fungsi yaitu: membantu proses penyerbukan dan menarik beberapa jenis serangga atau hewan, mencegah kerusakan tanaman oleh serangga atau hewan, dan sebagai cadangan makanan bagi tanaman (Sudaryani dan Sugiharti, 1998). Terdapat pula katekin dan tannin yang termasuk senyawa polifenol (Damayanti, 2005).

Selain itu, daun sirih juga mengandung enzim diastase dan gula. Biasanya, daun sirih muda mengandung diastase, gula dan minyak atsiri lebih banyak

dibandingkan dengan daun sirih tua. Sementara itu, kandungan taninnya relatif sama (Damayanti, R. dan Mulyono. 2005).

Sekarang pengendalian dan perawatan terhadap tanaman sudah dilakukan secara alami. Penggunaan zat yang bersifat alami tidak akan meninggalkan residu yang bersifat toksik bagi lingkungan. Ekstrak daun sirih merupakan salah satu biopestisida antifungi yang sudah mulai marak digunakan. Beberapa penelitian mengenai antifungi alami yang efektif untuk melawan infeksi jamur telah dilakukan. Salah satu tanaman yang telah diteliti adalah sirih hijau (*Piper betle* Linn).

Daun sirih hijau telah dibuktikan mempunyai daya antibakteri dan daya antifungi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih berfungsi sebagai anti jamur yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan konidia jamur (Nalina dan Rahim, 2006). Komponen kimia daun sirih yakni minyak atsiri, seskuiterpen, triterpen, terponoid sitosterol neolignan dan krotepoksid. Aktivitas jamur diduga berasal dari minyak atsiri daun sirih yaitu isocugenol, limonene, dan karefilena (Hertiana dan Purwanti, 2002).

Tabel 1. Komposisi Kimia Daun Sirih Segar per 100 gram (Sumber: Agustin, 2005)

<u>Kandungan</u>	<u>Jumlah</u>
<u>Air</u>	<u>85,4 mg</u>
<u>Protein</u>	<u>3,1 mg</u>
<u>Karbohidrat</u>	<u>6,1 mg</u>
<u>Serat</u>	<u>2,3 mg</u>
<u>Yodium</u>	<u>3,4 mg</u>
<u>Mineral</u>	<u>2,3 mg</u>
<u>Kalsium</u>	<u>230 mg</u>
<u>Fosfor</u>	<u>40 mg</u>
<u>Besi Ion</u>	<u>3,5 mg</u>
<u>Karoten (Vitamin A)</u>	<u>9600 iu</u>
<u>Kalium Nitrat</u>	<u>0,26–0,42 mg</u>
<u>Tiamin</u>	<u>70 mg</u>
<u>Ribovlafin</u>	<u>30 mg</u>
<u>Asam Nikotinal</u>	<u>0,7 mg</u>
<u>Vitamin C</u>	<u>5 mg</u>

2.5.2 Metode Ekstraksi Daun Sirih

Proses ekstraksi bahan tumbuhan meliputi dua fase, yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membilas komponen-komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. Pada fase ekstraksi, mula-

mula terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sel sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar. Hal ini menyebabkan pelarut dapat dengan leluasa masuk ke dalam sel. Bahan isi sel kemudian terlarut dalam pelarut, sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi keluar akibat adanya gaya yang ditimbulkan perbedaan konsentrasi bahan terlarut yang terdapat di dalam dan di luar sel (Voight, 1995).

Menurut Darwis (2000) ada beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan yaitu:

1. Ekstraksi Maserasi

Merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, dan ekstraksi senyawa akan sempurna. Karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi tergantung pada bahan aktif yang diinginkan dari simplisia. Merupakan metode ekstraksi yang melakukan pengadukan beberapa kali pada suhu ruang. Tujuan dari pengadukan adalah untuk mempercepat proses perpindahan bahan aktif yang dibutuhkan dari simplisia. Hasil ekstrak dipengaruhi oleh jumlah pelarut dan bahan simplisia yang digunakan.

2. Ekstraksi Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama dengan pelarut. Tetapi efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan.

3. Ekstraksi Sokletasi

Sokletasi menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan mudah dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas.

4. Destilasi Uap

Proses destilasi banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu cukup tinggi, yang lebih tinggi daripada pelarut yang digunakan. Pada umumnya banyak digunakan untuk minyak atsiri.

5. Pengempaan

Metode ini lebih banyak digunakan dalam proses industri seperti pada isolasi CPO dari buah kelapa sawit dan isolasi katekin dari daun gambir. Dimana dalam proses ini tidak menggunakan pelarut.

2.5.3 Pemanfaatan Ekstrak Sirih

Berbagai penelitian sudah dilakukan untuk mengetahui potensi dari ekstrak daun sirih. Salah satunya adalah ekstrak daun sirih digunakan sebagai biofungisida alami terhadap jenis patogen yang menyebabkan Antraknosa, yakni *Colletotrichum fragariae* pada tanaman Strawberry secara in vitro. Ekstrak daun sirih berfungsi sebagai antifungi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan konodia dari jenis jamur (Nalina dan Rahim, 2006). Komponen kimia daun sirih adalah minyak atsiri, seskuiterpen, triterpen, terpenoid sitosterol neolignan dan krotepoksid. Aktivitas cendawan diduga berasal dari minyak atsiri daun sirih yaitu isocugenol, limonene dan kariofilena (Hertiana dan Purwanti, 2002). Mekanisme sebagai dampak dari uji toksisitas terhadap *C. fragariae* yang diberi perlakuan ekstrak daun sirih, adalah pertumbuhan *C. fragariae* menjadi terhambat. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun sirih yang diberikan maka persentase pertumbuhan dari konidia jamur juga semakin kecil. Sifat antifungi ini dapat juga diaplikasikan pada jenis jamur *Fusarium*.

Selain sebagai biofungisida alami, ekstrak daun sirih juga dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri. Penelitian ini membuktikan melalui penelitian Harapini (1996) dikatakan bahwa daun sirih mempunyai peran sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan efektifitas kuat karena mengandung minyak atsiri dengan *bethel phenol* dan turunannya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat digunakan dalam produk kesehatan contohnya pada pasta gigi.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Januari hingga Mei 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave*, timbangan analitik, label, oven, autoclave, cawan Petri, kertas saring, mikroskop, pinset, jarum ose, *Cork Borer*, ember, cover glass ukuran 18 x 18 mm, botol media, mikro pipet, tabung reaksi, mikroskop, LAFC, tabung erlenmeyer, *beaker glass*, *object glass*, aluminium foil, kompor listrik, pisau, penggaris, gelas ukur, oven, *Rotary Evaporator*.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian tanaman kedelai yang terserang patogen *S. rolfsii*, media PDA, methanol, NaOCl 1 %, anti bakteri (*chloramphenicol*), aquades, spritus, alkohol 70%, methanol 70%, daun sirih, plastik *wrapping* dan buku identifikasi jamur.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel Tanaman yang Terinfeksi *S. rolfsii*

Sampel tanaman yang terinfeksi *S. Rolfsii* untuk penelitian ini diambil dari kebun percobaan Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Tanaman Umbi (BALITKABI) Malang. Sampel tanaman dimasukkan ke dalam plastik dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi patogen.

3.3.2. Pembuatan Media Buatan

Isolasi patogen jamur dan uji toksisitas menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Pembuatan 1 L media PDA membutuhkan 200gr kentang, 20 gr *dextrose*, 20 gr agar, klorampenikol 2 kapsul 25 mg, dan aquades steril 1 L.

Untuk membuat media PDA langkah awal yang harus dilakukan adalah mengupas kentang sebagai bahan utama yang akan diambil sari/ekstraknya. Kentang yang sudah dikupas kemudian dipotong berbentuk kubus dengan volume 1 cm³. Potongan kentang dicuci bersih pada air mengalir dan direbus dalam 1 L aquades hingga kentang melunak selama 1 jam. Air rebusan yang berisi sari kentang ditambahkan dextrose sambil diaduk. Setelah mendidih, dimasukkan agar sedikit demi sedikit dan sambil dilakukan pengadukan. Media ditunggu hingga mendidih. Setelah media mendidih dan didinginkan dilakukan penambahan klorampenikol. Media dimasukkan kedalam botol media/tabung *erlemeyer* dan ditutup menggunakan kapas atau dilapisi menggunakan aluminium foil dan dibalut plastik wrap. Media yang sudah dimasukkan kedalam botol media kemudian disterilkan terlebih dahulu sebelum digunakan, menggunakan *autoclave* selama 20 menit dengan suhu 120° C dan tekanan 1 atm (Sastrahidayat, 2014).

3.3.3. Isolasi dan Pemurnian Jamur Patogen

Jamur patogen *S. rolfsii* diisolasi dari sampel yang telah diambil di lapang. Metode isolasi ini mengacu pada Indratmi (2000), bagian tanaman kedelai yang terserang dicuci dengan aquades steril, kemudian dipotong ukuran 1 x 1 cm dengan setengah bagian sehat dan setengah bagian sakit. Potongan daun direndam dalam NaOCl 1 %, alcohol 70 % dan dua kali aquades steril masing-masing selama 1 menit, kemudian dikeringkan diatas tissue steril sebelum ditanam pada media PDA. Kegiatan ini dilakukan di LAFC. Kultur isolat diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari yaitu setelah nampak adanya pertumbuhan koloni jamur. Sepotong hifa kemudian diisolasi dari koloni jamur yang tumbuh, dan ditanam pada media PDA baru untuk proses purifikasi.

Setelah didapat isolat murni, kemudian dilakukan inkubasi jamur patogen hingga koloni tumbuh pada cawan petri di media PDA baru selama 7 hari pada suhu ruang. Pada patogen jamur *S. Rolfsii*, miselia jamur yang tumbuh pada saat isolasi akan berbentuk seperti kapas, tipis dan lembut serta berwarna putih. Tetapi dipastikan bahwa media yang diikutsertakan pada saat purifikasi harus bebas kontaminan.

3.3.4. Identifikasi Jamur Patogen

Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa jamur yang ditemukan merupakan jamur *S. rolfii*. Identifikasi dilakukan dengan cara mengamati karakteristik koloni dan morfologi hifa maupun sklerotia pada media PDA secara makroskopis dan mikroskopis.

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri meliputi warna koloni, tekstur koloni, pola sebaran dan ada tidaknya lingkaran konsetris. Pengamatan secara mikroskopis, dilakukan dengan cara mengambil potongan miselium jamur, kemudian diletakkan pada *object glass* yang sudah diberi media PDA secukupnya dan ditutup dengan cover glass kemudian di-*squash* dan diinkubasi di tempat steril dan lembab selama kurang lebih 3 hari dan diamati dengan mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 400x mengacu pada buku kunci identifikasi jamur H.L Barnett & Barry B. Hunter,

3.4 Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih terhadap Patogen penyebab Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai

3.4.1. Ekstraksi Daun Sirih

Metode ekstraksi dalam penelitian ini mengacu pada metode standarisasi parameter umum ekstraksi tumbuhan oleh Department Kesehatan RI (2000).

a. Persiapan Bahan Baku dan Rendemen Daun Sirih

Pengambilan sampel daun sirih yang digunakan untuk proses ekstraksi dilakukan dengan cara mengumpulkan langsung bagian daun dari tanaman sirih hijau. Tanaman Sirih Hijau yang digunakan berasal dari UPT Materia Medica Batu dengan tujuan untuk memperoleh keaslian kunci determinasi dan identifikasi tanaman yang sesuai.

Sampel yang digunakan untuk proses ekstraksi hanya bagian daun Sirih Hijau saja. Pengambilan sampel dilakukan pada saat daun tumbuhan telah berwarna hijau sempurna, dimana pada saat itu kadar senyawa aktif paling tinggi sehingga diperoleh mutu yang baik. Daun yang sudah dipetik kemudian dipisahkan dari berbagai jenis zat kontaminan (pengotor) yang dapat menempel pada daun. Pembersihan dilakukan dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapat daun yang memiliki kualitas yang bagus

untuk digunakan. Seleksi ini dilakukan dengan cara manual dengan memilih secara langsung daun yang siap untuk diekstrak.

Kemudian dilakukan pencucian simplisia atau bagian daun, dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang masih melekat pada simplisia setelah pelaksanaan seleksi kering. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dan waktu yang singkat dengan tujuan untuk menghilangkan mikroba dan pengotor namun tidak mempengaruhi kandungan zat aktif yang terdapat dalam sampel ekstrak. Setelah dilakukan pencucian, kemudian daun yang terpilih dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan kering oven pada suhu (50-70)° C selama 4-6 jam, dan dilakukan kontroling pada 4 jam pertama.

b. Ekstraksi Daun Sirih

Setelah kering, daun kemudian dihaluskan/digiling hingga menjadi bubuk. Bubuk daun sirih hijau disortir menggunakan saringan 60 mesh untuk mendapatkan ukuran yang seragam. Daun sirih yang telah menjadi bubuk diambil 100 gram lalu dilarutkan kedalam 1000 ml methanol 70%. Pemilihan pelarut harus memiliki selisih titik didih yang lebih besar dari zat yang diekstrak, sehingga lebih mudah dalam melakukan pemisahan. Setelah itu dilakukan proses maserasi selama 2 x 24 jam. Setelah dimaserasi selanjutnya bubuk daun sirih yang telah dilarutkan dengan methanol 70% dievaporasikan sampai mengental (telah menjadi ekstrak) menggunakan alat Rotary Evaporator. Hasil ekstraksi digunakan untuk uji toksisitas.

3.4.2 Metode Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirih terhadap Patogen penyebab Rebah

Kecambah pada Tanaman Kedelai

Penelitian uji toksisitas ekstrak daun sirih menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dengan ulangan sebanyak 5 kali.

P1 : Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 0 % (kontrol)

P2 : Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 2%

P3: Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 4%

P4 : Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 6%

P5 : Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 8%

P6 : Ekstrak daun Sirih pada konsentrasi 10%

Uji toksisitas terhadap *S. rolfsii* dilakukan pada media PDA yang akan dicampurkan dengan ekstrak daun Sirih Hijau sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Pencampuran ekstrak dan media PDA dilakukan sesuai dengan penelitian Achmad dan Ido Suryana (2009) melalui perhitungan konsentrasi EDS (ekstrak daun sirih) terlebih dahulu dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Konsentrasi EDS} = \frac{e}{e+a} \times 100\%$$

Keterangan :

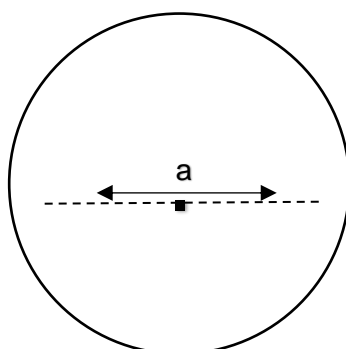
e :volume ekstrak daun sirih (EDS) yang diambil dari EDS hasil ekstraksi (ml)

a :volume aquades yang ditambahkan (ml)

e + a :volume total antara ekstrak daun sirih ditambah aquades

Pengujian secara in vitro dilakukan dengan cara menuangkan 2 ml ekstrak daun sirih dari masing-masing konsentrasi, kemudian dimasukkan 10 ml media PDA. Setelah terbentuk konsentrasi media yang diinginkan, campuran media dituangkan pada cawan petri, dan ditunggu hingga memadat. Setiap konsentrasi dilakukan dengan 5 kali ulangan, sehingga total petri yang digunakan adalah 30 pasang cawan petri. Semua aktivitas penuangan media dilakukan didalam LAFC dengan kondisi aseptik untuk menghindari terjadinya kontaminan.

Setelah campuran PDA dan ekstrak memadat biakan murni *S. rolfsii* diambil menggunakan *Cork borrer* dan jamur tersebut diletakkan tepat di bagian tengah. Setiap konsentrasi ekstrak dibuat lima kali ulangan. Biakan jamur tanpa ekstrak disiapkan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mengukur diameter koloni jamur pada setiap perlakuan. Persentase daya hambat dihitung dengan membandingkan diameter jamur pada media yang diberi ekstrak dengan jamur pada media kontrol.



Gambar 10. Pola penghitungan diameter koloni jamur (Keterangan: a = titik tumbuh inokulasi jamur)

Parameter yang diamati adalah persentase daya hambat dari ekstrak daun sirih yang sudah tercampur pada media PDA sebagai media tumbuh, terhadap pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii*. Daya hambat pertumbuhan ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* secara invitro diamati setiap hari. Sehari setelah inokulasi, hingga hari ke tujuh setelah inokulasi. Pengukuran dilakukan pada titik yang sama. Kemudian dilakukan persentase penghambatan kontrol setiap pengamatan dengan menggunakan rumus Rai (2006) berikut :

$$P = \frac{\text{diameter kontrol} - \text{diameter perlakuan}}{\text{diameter kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

- P = Persentase penghambatan
- Diameter kontrol (mm)
- Diameter perlakuan (mm)

3.5 Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Kualitas ekstrak yang dihasilkan biasanya berbanding terbalik dengan jumlah rendamen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendamen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang di dapatkan. Adapun rumus untuk menghitung rendamen sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

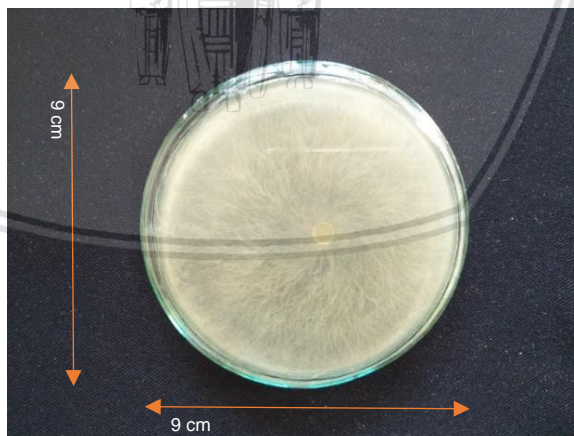
Data yang diperoleh dari pengujian penghambatan ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan penyakit rebah semai pada tanaman Kedelai dianalisis menggunakan analisis ragam (Uji F), apabila terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

IV. PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii merupakan salah satu jenis patogen tular tanah. Isolasi jamur *S. rolfsii* didapat dari tanaman Kedelai yang terinfeksi atau tanaman yang bergejala. Patogen ini menyerang berbagai jenis tanaman kacang-kacangan seperti kedelai dan kacang tanah. Jamur patogen ini menyebabkan gejala penyakit busuk batang, yang menyebabkan penyakit rebah kecambah pada saat awal tanam dan layu. Bagian daun yang terinfeksi memiliki gejala bagian bawah permukaan daun berwarna kuning dan memiliki bercak berwarna coklat. Pada infeksi lanjut bagian tanaman yang terinfeksi akan ditumbuhi miselia jamur berwarna putih halus menyerupai benang. Pencarian spesimen di lapang diambil dari tanaman kedelai yang terserang *S. rolfsii* dan diisolasi dari bagian akar, batang dan daun yang terinfeksi.

Biakan murni diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Sebelum dilakukan proses identifikasi, patogen diisolasi di laboratorium. Isolasi patogen laboratorium dilakukan dengan cara memotong bagian tanaman yang bergejala kemudian menanamkannya pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Hasil pengamatan secara makroskopis dilakukan pada media PDA dengan hasil purifikasi dari isolat jamur.

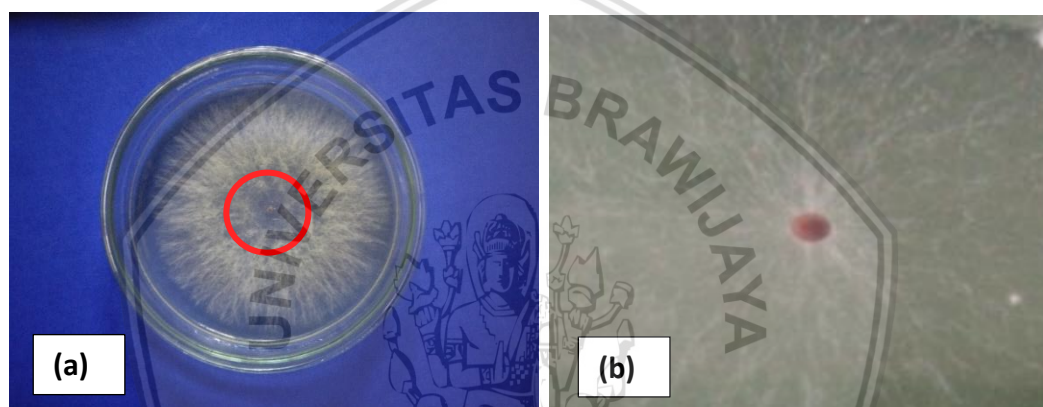


Gambar 11. Penampakan makroskopis hasil purifikasi Jamur *S. rolfsii* 14 hsi pada media PDA

Didapatkan koloni jamur *S. rolfsii* pada awal pertumbuhan memiliki miselia berwarna putih dan memiliki tekstur seperti benang. Dan pada hari ke 8 setelah purifikasi, miselia sudah mulai memenuhi bagian permukaan cawan petri dengan diameter 9 cm. Hal ini sesuai dengan pendapat Fitnher (2006) yang mengatakan

bahwa jamur *S. rolfsii* memiliki ciri makroskopis khusus yaitu berwarna putih, bentuk koloni seperti bulu dan terdapat gumpalan padat seperti kapas. Pada dasarnya ada dua jenis hifa yang dihasilkan *S. rolfsii* yaitu kasar dan lurus, miselium yang terdiri dari benang – benang berwarna putih, tersusun seperti bulu dan kapas. Magenda (2011) juga mengungkapkan bahwa *S.rolfsii* membentuk koloni dengan miselium berwarna putih seperti kapas kompak dan padat.

Pada saat isolat berumur 9 hari mulai muncul sclerotia dengan bentuk bulat dan memiliki tekstur licin dan keras, sclerotia merupakan bentuk pertahanan hidup dari *S. rolfsii*. Awalnya sclerotia berwarna putih kemudian berubah menjadi coklat muda dan warnanya semakin hari semakin pekat hingga mendekati hitam.

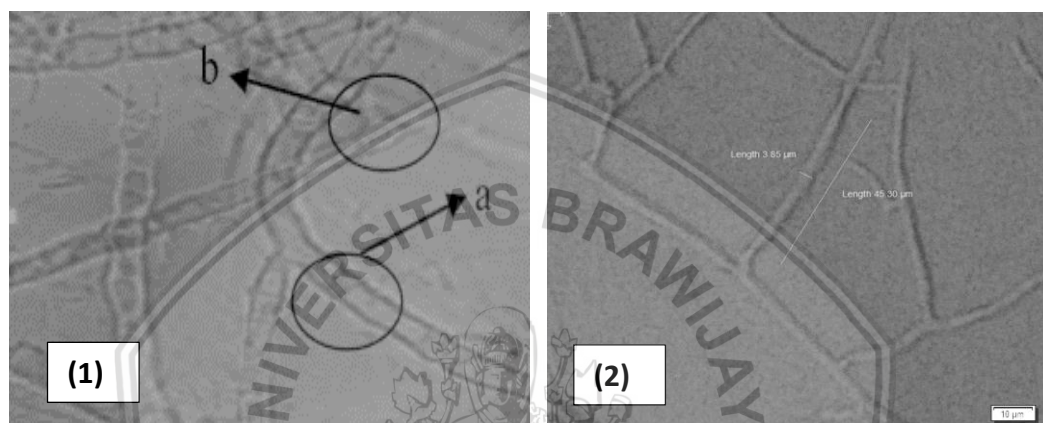


Gambar 12. Sklerotia pada isolat *S. rolfsii* (a) ; Pola perkecambahan dispersif dari Sklerotium Jamur *S. Rolfsii* (hifa keluar dari semua sudut sklerotia) (Sumber : Seny, 2011) (b)

Menurut Ferreira & Boley (1992), ukuran sklerotia mempunyai banyak bentuk yang dihasilkan oleh miselium, bulat dan putih ketika muda kemudian menjadi coklat gelap sampai hitam. Tipe perkecambahan sklerotia berbentuk dispersif (hifa keluar dari semua sudut sklerotia) dengan benang-benang halus bercabang berbentuk seperti kapas dan berwarna putih. (Nurmaya, 2013).

Hifa jamur *S. rolfsii* tidak menghasilkan spora (aseksual) ataupun konidium (seksual). Seperti yang terdapat dalam buku Identifikasi Jamur Barnett dan Hunter (2000) jamur *S. rolfsii* merupakan jenis jamur yang tidak tergolong kedalam anomorf ataupun teleomorf, melainkan menghasilkan sclerotia sebagai pemencaran dan untuk pertahanan hidup. Sehingga identifikasinya didasarkan atas karakteristik, ukuran, bentuk, dan warna sklerotia.

Sklerotia pada jamur *S. rolfsii* memiliki bentuk bulat dengan kulit keras dan berwarna coklat. Dari hasil pengamatan, tipe perkecambahan sklerotia berbentuk dispersif (hifa keluar dari semua sudut sklerotia) dengan benang-benang halus bercabang berbentuk seperti kapas dan berwarna putih. Sklerotia mempunyai kulit tebal dan keras sehingga tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, terutama kekeringan dan suhu tinggi. Pada media buatan, sklerotia baru terbentuk setelah 8-11 hari. Menurut Sumartini (2011) Sklerotia terdiri atas tiga lapisan yaitu kulit dalam, kulit luar dan kulit teras.



Gambar 13. Hifa (a) dan Hubungan klan (b) (1) ; Hifa bersekat dengan Panjang 45,30 μm dan lebar 3,65 μm pada perbesaran 400x mikroskop (2)

Pengamatan jamur *S. rolfsii* secara mikroskopis didapatkan bahwa kenampakan miselia bersepta dan tidak berwarna serta tidak menghasilkan konidia. Hifa memiliki satu atau lebih hubungan klan, yang menandakan bahwa jamur ini tergolong kedalam kelas Basidiomycetes (Magenda, 2011 dalam Novi, 2015). Jamur *Sclerotium* sp. diklasifikasikan ke dalam Filum: Fungi, kelas : Basidiomycetes, ordo : Agaricales, famili : Typhulaceae, genus : *Sclerotium* dan spesies : *rolfsii* (Agrios, 1996). Menurut Barnet dan Hunter (2000), jamur ini tidak memiliki konidia, tetapi memiliki hifa dan *clamp connection* (hubungan klan).

4.2 Karakteristik Hasil Ekstraksi Daun Sirih

Serbuk daun Sirih Hijau pada ekstraksi dengan metode maserasi memiliki derajat kehalusan serbuk terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus. Dan untuk pembuatan ekstrak merupakan serbuk halus dengan ukuran ayakan 60 mesh agar ukuran simplisia seragam. Tujuan penghalusan ini

adalah untuk memaksimalkan proses ekstraksi karena dengan ukuran partikel yang kecil menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga kontak serbuk dengan cairan pelarut semakin banyak, akibatnya semakin besar kemampuan cairan pelarut dalam mengekstraksi senyawa aktif dalam simplisia. (Viswanad dkk, 2011)

Metode Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan pelarut untuk mendapatkan kandungan zat yang diinginkan dengan melakukan beberapa kali pengadukan pada temperature ruangan. Tujuan dilakukan pengadukan adalah untuk mempercepat proses perpindahan bahan aktif yang diinginkan dari bahan simplisia yang sudah dihaluskan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat yang tahan terhadap pemanasan dan yang tidak tahan dengan pemanasan. Pemilihan metode ini didasarkan pada peralatan yang digunakan ketika proses ekstraksi cukup sederhana. Tetapi proses ekstraksi yang dilakukan membutuhkan waktu untuk mengekstraksi sampel yang cukup lama, dan cairan pelarut yang digunakan lebih banyak sehingga mengeluarkan biaya yang banyak.

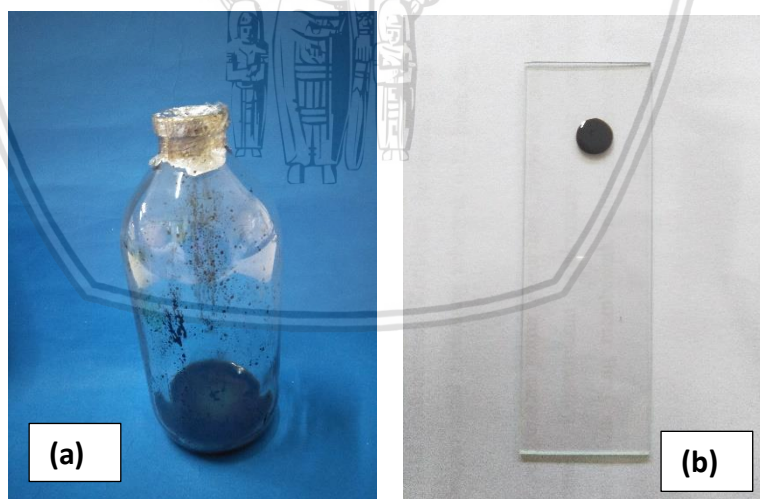


Gambar 14. Serbuk daun Sirih yang sudah diberi pelarut dan dimaserasi (a) ; Pelarut Methanol 70 % (b)

Pada penelitian ini hasil ekstraksi murni daun Sirih Hijau dengan metode maserasi memiliki tekstur larutan yang sangat kental, berwarna hijau tua gelap serta sukar larut dalam air karena memiliki berat jenis yang lebih rendah dari air. Menurut Mulyono (2005) pencampuran minyak atsiri dengan air akan menyebabkan komponen minyak berada di atas air. Hal ini disebabkan karena minyak atsiri memiliki massa jenis yang cenderung lebih ringan daripada massa jenis air, dimana massa jenis minyak atsiri sebesar $0,708 \text{ g/cm}^3$ sedangkan air memiliki massa jenis

sebesar 1g/cm^3 . Karakteristik tersebut disebabkan karena adanya kandungan minyak atsiri didalam ekstrak. Minyak atsiri mempunyai rasa getir (pungent taste), berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, yang diambil dari bagian-bagian tanaman seperti daun, buah, biji, bunga, rimpang, kulit kayu, bahkan seluruh bagian tanaman. Minyak atsiri mudah larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter, petroleum, benzene, dan tidak larut dalam air (Sandler, 1952).

Cairan hasil ekstrak atau maserat minyak Daun Sirih Hijau memiliki kandungan minyak atsiri yang menyebabkan bila larutan tersebut mengenai/menyentuh jenis benda yang memiliki tekstur seperti kain dan kertas akan sukar untuk dihilangkan. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan minyak yang terdapat didalam hasil ekstrak. Ekstrak daun Sirih Hijau murni juga memiliki bau khas daun sirih (tajam). Bau khas yang tajam ini disebabkan oleh kandungan minyak Atsiri yang terdapat dalam ekstrak. Menurut Koensomardiyah (2010) minyak Atsiri adalah salah satu kandungan tanaman yang sering disebut dengan “minyak terbang” atau *volatile oils*. Dinamakan demikian didasarkan atas sifat minyak atsiri yang mudah menguap. Minyak atsiri juga disebut *essential oil* (berasal dari kata *essence*) karena memberikan bau khas pada tanaman.



Gambar 15. Hasil ekstrak murni daun Sirih Hijau (a) ; Tetesan ekstrak murni pada kaca preparat (b)

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi sebanyak 3 kali. Terdapat perbedaan hasil perhitungan rendemen hasil ekstrak. Serbuk simplisia yang diekstrak disaring dengan ukuran 60 mesh menghasilkan rendemen dengan berurut sebanyak 10,5 ml ; 11 ml ; dan 11,5 ml dengan jumlah pelarut yang digunakan

setiap ekstraksi adalah 1000ml metanol 70% dan lama waktu ekstraksi 4-5 jam. Perbedaan hasil dari rendemen ekstrak yang dihasilkan diduga karena perbedaan waktu/lama proses ekstraksi yang digunakan dengan alat *Rotary Evaporator*.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau

No.	Ekstraksi	Berat Serbuk Simplisia	Rendemen Ekstrak (%)
1	Pertama	100 gr	10,5 %
2	Kedua	100 gr	11 %
3	Ketiga	100 gr	11,5 %

Prosedur ekstraksi yang berbasis kesetimbangan konsentrasi yaitu maserasi, akan berhenti apabila distribusi zat aktif yang diekstraksi telah mencapai kesetimbangan tetap (konstan). Mardina (2011) menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi rendemen yang diperoleh karena kesempatan bereaksi antara bahan dengan pelarut semakin lama sehingga proses penetrasi pelarut kedalam sel bahan semakin baik yang menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel. Menurut Heath dan Reineocius (1986), semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut dan semakin besar kecepatan mencapai kesetimbangan system. Maka selain waktu (lama proses ekstraksi) ukuran atau lebar dari simplisia juga akan mempengaruhi jumlah ekstrak yang akan didapatkan.

4.3 Pengujian Esktrak Daun Sirih Hijau Terhadap Pertumbuhan Jamur

Sclerotium rolfsii secara *In-vitro*

Pengujian secara *in-vitro* bertujuan untuk menguji kemampuan ekstrak daun Sirih Hijau dalam menekan pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada media PDA. Pengukuran diameter koloni yang tumbuh pada cawan petri dengan media yang mengandung ekstrak daun sirih dilakukan selama 7 hari setelah inokulasi (hsi).

4.3.1 Diameter Koloni Jamur *Sclerotium rolfsii*

Penghambatan pertumbuhan jamur dapat diketahui dari diameter koloni yang tumbuh pada media dengan masing-masing perlakuan. Masing-masing perlakuan memiliki perbedaan diameter koloni. Diameter koloni pada kontrol lebih lebar bila dibandingkan dengan perlakuan pada seluruh konsentrasi ekstrak daun sirih. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai.

Perlakuan kontrol atau tidak menambahkan ekstrak daun sirih pada media terlihat koloni jamur *S. rolfsii* dapat tumbuh memenuhi cawan petri hingga akhir pengamatan (7 HSI). Pada perlakuan konsentrasi ekstrak daun sirih 2%, 4%, 6% dan 8% terlihat bahwa koloni jamur dapat mengalami pertumbuhan namun dengan diameter yang sangat berbeda jauh dengan perlakuan kontrol. Dan pada perlakuan 10%, koloni jamur tidak dapat tumbuh bahkan hingga akhir pengamatan.

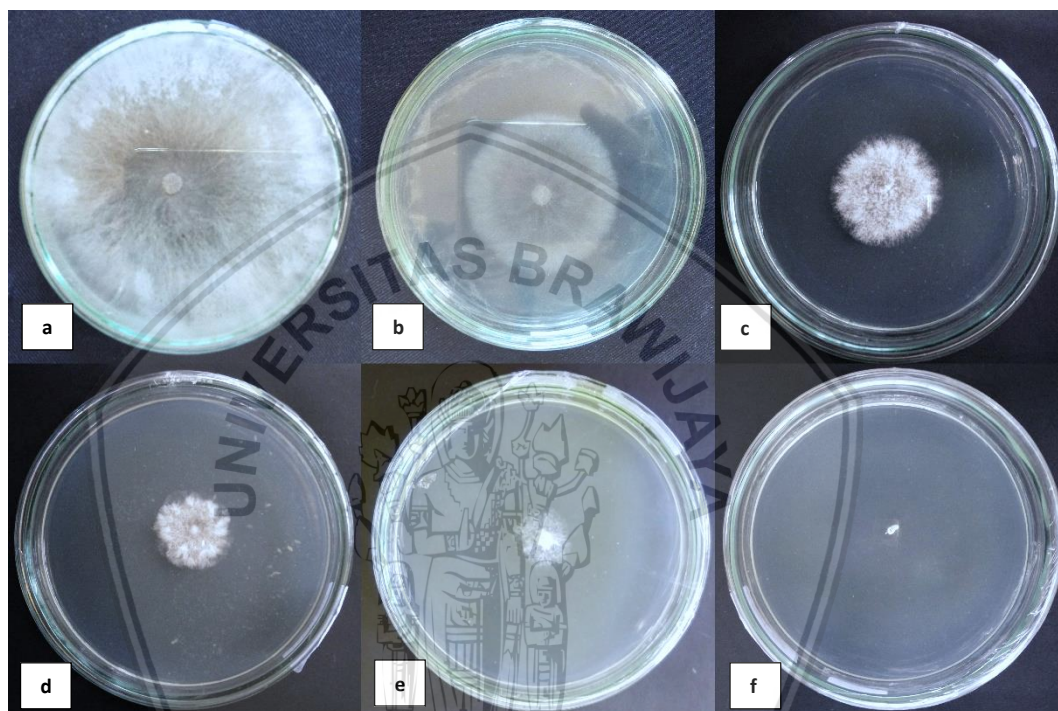
Tabel 3. Rerata pertumbuhan Diameter Koloni Jamur *S. rolfsii* dalam Pengujian Ekstrak daun Sirih Hijau 7 hsi.

Diameter koloni (cm)	Pengamatan (hsi)						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol (0%)	4,6c	11,8d	21,4d	32,4e	41,6e	72,2e	88,2e
2%	2,2b	4,8c	12,6c	21,2d	26,2d	35,2d	49,6d
4%	0,0a	1,0b	4,8b	9,2c	12,8c	18,2c	25,2c
6%	0,0a	0,2ab	1,0a	2,6b	3,2b	3,6b	4,6b
8%	0,0a	0,0a	0,0a	0,4a	0,8a	1,0a	1,0a
10%	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,2a	0,2a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh notasi huruf pada baris yang sama menunjukkan tingkat berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5 %. Data ditransformasi untuk keperluan analisis statistika dengan menggunakan transformasi Arcsin.

Tabel 3 menunjukkan pada masing-masing perlakuan konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan koloni jamur berupa lebar diameter koloni saat hari pertama pengamatan hingga pengamatan 7 hari setelah isolasi. Rerata lebar diameter koloni jamur pada hari pertama pengamatan untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau pada konsentrasi 2 % adalah sebesar 0,22 cm, konsentrasi ekstrak 4 % hingga 10 % adalah 0. Artinya, pada hari pertama, perlakuan pada konsentrasi tersebut belum mengalami pertumbuhan jamur *S. rolfsii*. Diameter koloni jamur *S. rolfsii* pada setiap perlakuan konsentrasi mengalami penambahan lebar koloni jamur hingga akhir pengamatan, kecuali pada perlakuan 10%. Perlakuan dengan konsentrasi 10% mengalami pertumbuhan perkembangan lebar diameter koloni yang sangat lambat atau sangat berbeda nyata bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Terdapat 4 ulangan pada perlakuan dengan konsentrasi 10% tidak mengalami pertumbuhan jamur hingga akhir pengamatan. Semakin kecil diameter yang terdapat pada perlakuan menandakan

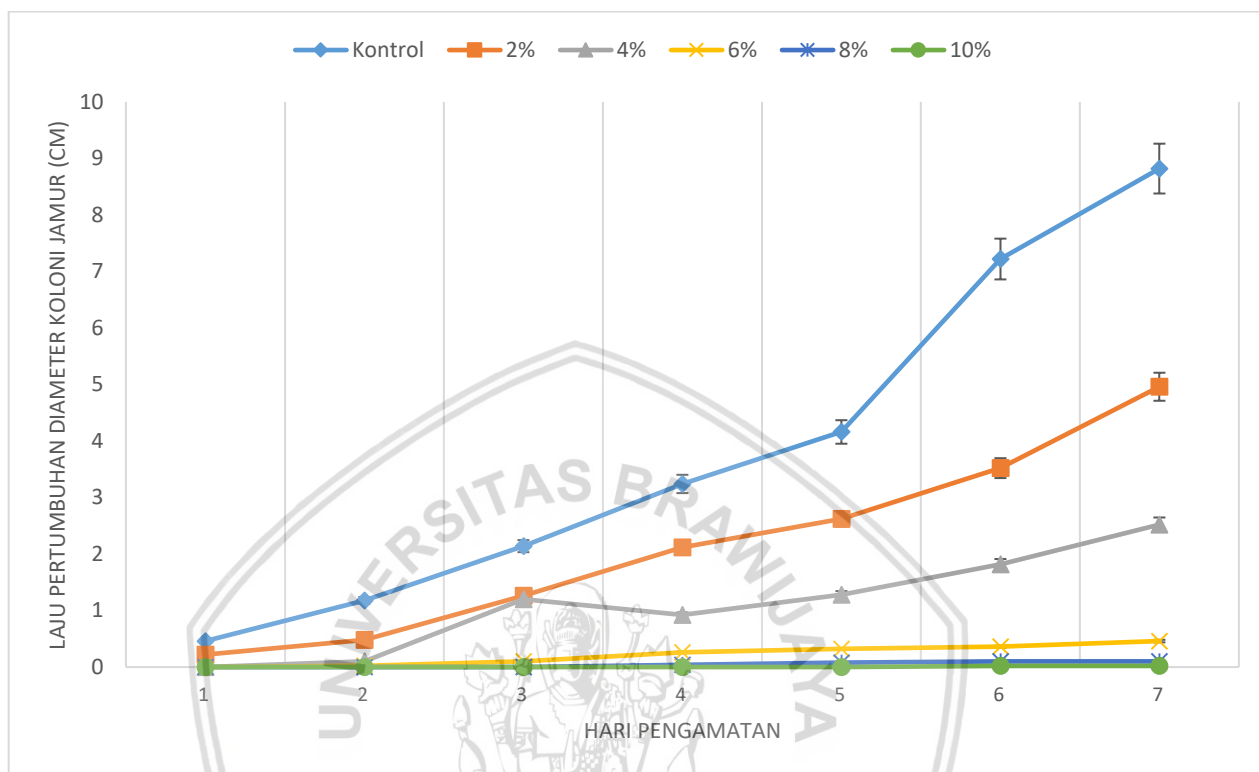
bahwa adanya penghambatan oleh ekstrak murni daun Sirih Hijau terhadap pertumbuhan jamur *S.rolfsii*. Adanya potensi penghambatan ini dapat disebabkan oleh senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri pada ekstrak murni daun Sirih Hijau yang mempunyai sifat antifungi (anti jamur). Menurut Ali *et.al.*, (2008) pada konsentrasi ekstrak daun Sirih yang lebih tinggi senyawa aktif yang berfungsi sebagai pengendali jamur akan lebih banyak sehingga dapat mengendalikan senyawa jamur yang bersifat patogen.



Gambar 16. Pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* pada Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau secara *In Vitro* dalam cawan petri pada saat 7 hari pengamatan dengan metode peracunan media dengan perlakuan (a) Kontrol ; (b) 2% ; (c) 4% ; (d) 6% ; (e) 8% ; (f) 10%.

Menurut Pelzcar dan Chan (1988), suatu antimikroba dapat bersifat fungistatis atau fungitoksik. Fungistatis merupakan keadaan yang menggambarkan kerja suatu bahan (fungisida) yang menghambat pertumbuhan fungi. Hal tersebut mungkin terjadi karena konsentrasi antimikroba yang diberikan terlalu rendah. Fungitoksik merupakan keadaan yang menggambarkan kerja suatu bahan (fungisida) yang menghentikan pertumbuhan fungi. Fungistatik dapat diubah menjadi fungitoksik dengan cara menaikkan konsentrasi suatu antimikroba sampai titik kritis, dimana fungi tersebut dapat dibunuh oleh fungisida tersebut. Begitupun sebaliknya, untuk menurunkan pengaruh fungisida dari taraf fungitoksik menjadi fungistatik diperoleh dengan cara menurunkan konsentrasi fungisida yang

diberikan. Kondisi serupa terjadi pada pemberian ekstrak daun sirih hijau terhadap *S. rolfsii*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih yang diberikan maka pertumbuhan jamur *S. rolfsii* akan semakin melambat.



Gambar 17. Grafik Rerata Laju Pertumbuhan Diameter Koloni Jamur *S. rolfsii* pada berbagai konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau

Gambar 17 menunjukkan bahwa, perlakuan kontrol atau tidak diberi penambahan konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau pada media menunjukkan pertumbuhan koloni jamur mengalami peningkatan setiap harinya. Perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau pada konsentrasi 2%, 4% dan 6% juga memiliki penambahan panjang diameter koloni setiap harinya, tetapi tidak terlalu besar bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Perlakuan dengan konsentrasi 8% dan 10% memiliki pertambahan diameter koloni yang tidak signifikan. Adanya pengaruh tekanan pertumbuhan jamur dari ekstrak daun Sirih Hijau yang terdapat didalam media perbanyakan menyebabkan terhambat atau bahkan tidak tumbuhnya jamur patogen.

Hasil analisis ragam terhadap pertumbuhan koloni jamur *S.rolfsii* akibat perlakuan pemberian ekstrak daun Sirih Hijau dengan menambahkan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10% dan kontrol pada pengamatan 1 sampai 7 hsi menunjukkan

bahwa, perlakuan konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau yang diberikan berpengaruh nyata terhadap diameter pertumbuhan koloni jamur *S. rolfsii*.

4.3.2 Persentase Penghambatan Jamur *Sclerotium rolfsii* terhadap Ekstrak Daun Sirih HIjau pada Media.

Penghambatan jamur *S. rolfsii* dapat diketahui dengan menghitung persentase penghambatan setelah diketahui diameter koloni pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan Tabel 2 diperoleh hasil bahwa pada pengamatan 1 hsi hingga 7 hsi untuk masing-masing perlakuan pemberian ekstrak daun Sirih Hijau yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan jamur *S.rolfsii* pada media mengalami perubahan persentase penghambatan yang cenderung meningkat.

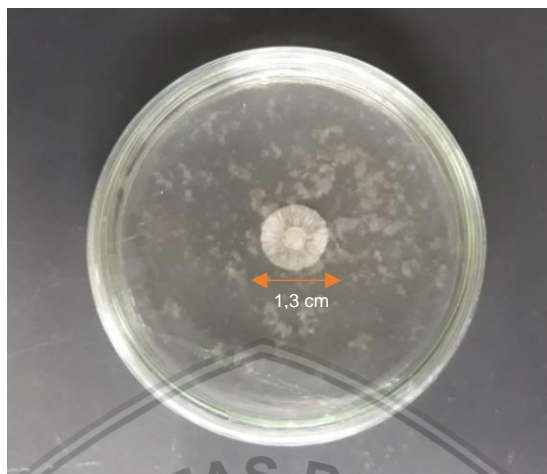
Tabel 4. Rerata persentase Penghambatan Koloni Jamur *S. rolfsii* dalam Pengujian Ekstrak daun Sirih Hijau 7 his pada media.

Diameter koloni (cm)	Pengamatan (hsi)						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol (0%)	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
2%	52b	58,8b	41b	34,6b	37,2b	51,2b	43,6b
4%	100c	91,2c	77,6c	92,2c	69,2c	74,8c	71,4c
6%	100c	100d	95,2d	92,2c	92,4d	95d	94,6d
8%	100c	100d	100e	98,8e	98,2e	98,8e	99e
10%	100c	100d	100e	100e	100e	98,8e	99f

Keterangan : Angka yang diikuti oleh notasi huruf pada baris yang sama menunjukkan tingkat beda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. Data ditransformasi untuk keperluan analisis statistika dengan menggunakan Arcsin.

Pengamatan hari pertama pemberian ekstrak daun Sirih Hijau telah memberikan pengaruh terhadap perentase penghambatan pertumbuhan diameter jamur *S. rolfsii* pada media. Tabel 6 menunjukkan bahwa pada akhir pengamatan yakni 7 hsi perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau pada konsentrasi 2% dapat menghambat jamur *S. rolfsi* sebesar 44%, konsentrasi 4% dapat menghambat sebesar 72%, konsentrasi 6% dapat menghambat sebesar 95%, dan konsentrasi 8% dapat menghambat hingga 99%. Terdapat 1 ulangan pada konsentrasi 8% yang dapat menghambat secara total yakni 100%, bersamaan dengan perlakuan 10% pemberian ekstrak daun Sirih Hijau pada media. Hal ini dikarenakan saat penghitungan diameter koloni jamur, miselium jamur *S. rolfsi*

tidak tumbuh saat pertama sekali pengamatan hingga hari terakhir pengamatan (7 hsi), dan sangat berbeda jauh bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol (tanpa pemberian ekstrak pada media perbanyakan).



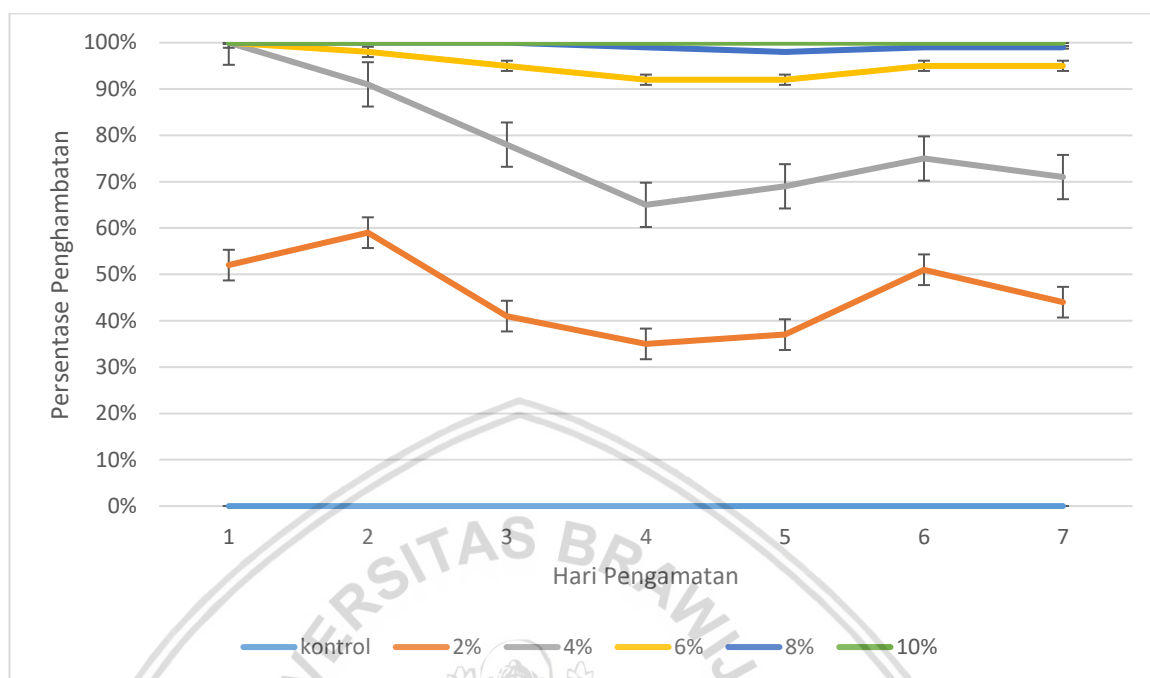
Gambar 18. Koloni jamur *S. rolfsii* pada perlakuan dengan konsentrasi 2% 3 hsi

Menurut Suwondo (1992) dan Pramono (1992) mengemukakan bahwa daun sirih merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki aktivitas antifungi yang relative tinggi dengan komponen terbesarnya adalah minyak atsiri yang mengandung senyawa fenol. Koesmiati (1996) menyatakan bahwa komponen penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari 82,8% senyawa fenol dan 17,2% senyawa bukan fenol. Sebagai antifungi fenol dapat merusak membrane sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel jamur (Fardiaz, 1992 dalam Dewi, 2011).

Pada grafik dibawah dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau yang diberikan, maka akan semakin tinggi persentase penghambatan jamur *S. rolfsii* sehingga dapat menghambat pertumbuhan koloni jamur pada media. Menurut Cowan (1999) dalam Kumalasari (2011) senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak daun sirih Hijau dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisis dinding sel jamur.

Senyawa fenol akan berikatan dengan senyawa ergosterol yang merupakan penyusun membran sel jamur sehingga menyebabkan terbentuknya suatu pori pada membran sel. Terbentuknya pori tersebut menyebabkan komponen sel jamur seperti asam amino, asam karboksilat, fosfat anorganik dan ester fosfat keluar dari sel

hingga menyebabkan kematian sel jamur dan menghambat pertumbuhannya (Suryana, 2004 “dalam” Wahyuni, dkk., 2014).



Gambar 19. Grafik Rerata Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* terhadap Ekstrak Daun Sirih Hijau

Tingkat aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur *S.rolfsii* tertinggi ada pada konsentrasi 6%, 8% dan 10% dengan aktivitas sangat kuat atau dapat menghentikan pertumbuhan jamur. Konsentrasi 2% termasuk dalam tingkat aktivitas penghambatan lemah, sedangkan pada konsentrasi termasuk dalam aktivitas penghambatan sedang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 15% dengan persentase penghambatan 100% merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun Sirih Hijau dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii*.

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas ekstrak daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) terhadap jamur patogen *S. rolfsii* secara *in-vitro* dapat disimpulkan bahwa :

1. Cairan hasil ekstrak murni atau maserat minyak daun Sirih Hijau (*Piper battle* L) mampu untuk menekan pertumbuhan dari patogen jamur *S. rolfsii* penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai..
2. Konsentrasi yang semakin tinggi memiliki nilai uji daya hambat yang semakin baik. Konsentrasi yang efektif dalam menekan pertumbuhan patogen secara berurut berada pada konsentrasi 8% dan 10%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, disarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan di lapang pada konsentrasi ekstrak yang sesuai untuk mengetahui efektifitas dari ekstrak terhadap penyakit rebah kecambah yang disebabkan jamur *S. rolfsii* pada tanaman kedelai, dan untuk membandingkan efektivitas ekstrak daun sirih dengan fungisida yang digunakan dalam menekan pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii*.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK (Aksi Agraris Kanisius). 2002. Kedelai. Cetakan Kelimabelas. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Adisarwanto. 2008. Budidaya Kedelai Tropika. Jakarta : Penebar Swadaya
- Aditya, U.K., Saleh, N., dan Sastrahidayat, I. 2011. Pengendalian penyakit rebah semai (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) pada tanaman kedelai dengan kombinasi *Streptomyces* antagonis dan Vasikular-Arbuskular Mikoriza. hlm. 246–259. Dalam M.M. Adi, Sholihin, A.A. Rahmianna, I.K. Tastra, Rozi, Hermanto, A. Sulisty, dan Sumartini (Ed.). Inovasi Teknologi untuk Pengembangan Kedelai Menuju Swasembada. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor.
- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Agusta, A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. Bandung : ITB Press
- Agustin, D.W. 2005. Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi Antara Hidrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% terhadap Bakteri Mix. Surabaya : Maj. Ked. Gigi (Dent.J.). Vol.38(1):45-47.
- Ali, I.F.G, Suri,K.A., Gupta, B.D., Satti,N.K., Dutt,P., Afrin,F., Qazi,G.N., and Khan,I.A. 2008. In Vitro Antifungal Activity of Hydroxychavicol Isolated from Piper betle L. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. Vol. 9(7): 1-9.
- Ariyanti, E.L., Jahuddin, A., dan Yunus, M. 2012. Potensi ekstrak daun sirih (*Piper betle* Liin) sebagai biofungisida penyakit busuk buah stroberi (*Colletotrichum fragariaebrooks*) secara in-vitro. Makassar : Agroteknos. Vol.2(3):174-179
- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang : FMIPA Universitas Andalas
- Damayanti, R. dan Mulyono. 2005. Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa. Jakarta : Agro Media Pustaka
- Dewi, R.S dan Saefuddin,A. 2011. Isolasi Rhizopus Oligosporus Pada Beberapa Inokulum Tempe Di Kabupaten Banyumas. Skripsi. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. 2013. Pedoman teknis pengelolaan produksi kedelai tahun 2013. Direktorat Jendral Tanaman Pangan. Jakarta : Dijen Pangan
- Ferreira, S.A., and Boley R.A. 1992. Plant diseases pathogen *Sclerotium rolfsii*. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html>. [25 April 2009]

- Fichtner, E.J. 1999. *Sclerotium rolfsii* Sacc. 'Kudzu of the Fungal World' <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html>. [25 April 2009]
- Hertiana, T. dan Purwati. 2002. Minyak Atrisi Hasil Destalasi Ekstrak Etanol daun Sirih (*Piper betle* L) beberapa daerah di Yogyakarta. Yogyakarta : Majalah Farmasi Indonesia. Vol.13(4):193-199
- Kadarwati,T,F. 2006. Pemupukan Rasional dalam Upaya Peningkatan Produktivitas Kapas. Malang : Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat. Jurnal Perspektif. Vol.5(2):59–70.
- Kandou, F.E., Magenda, S., dan Umboh, S.D. 2011. Karakteristik Isolat Jamur *Sclerotium rolfsii* dari Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* Linn.). Jurnal biologi. Vol.1(1): 1-7.
- Koensoemardiyah. 2010. A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik, dan Aroma Terapi. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Mursito,B. 2003. Ramuan Tradisional untuk Pelangsing Tubuh. Jakarta : Penerbit Swadaya
- Nalina, T., dan Rahim, Z.H.A. 2006. The Crude Aqueous Extract of *Piper betle* L. And its Antibacterial Effect Toward *Streptococcus mutans* in Vitro Study. Malaysia : Am. J. Biochem. Biotechnol. Vol.3(1): 10-5
- Nasution., Nurainun., Hasanuddin., Bakti, D. 2013. Uji antagonis isolat mutan *Sclerotium rolfsii* terhadap isolat tipe liar di laboratorium. Medan : Jurnal Online Agroekoteknologi. Vol.1(4):3-9
- Ningsih, A., Putri., Nurmiati., dan Agustien,A. 2013. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kental Tanaman Sirih terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Padang : Jurnal Biologi Universitas Andalas. Vol.2(3): 207-213
- Papuangan, N. 2013. Aktivitas penghambatan *Streptomyces* spp. Terhadap *Sclerotium rolfsii* secara *in-vitro*. Maluku Utara : Jurnal Online FKIP Unkhair. Vol.2(1):207-213
- Pelczar, M. J., dan Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1. Universitas Indonesia. Jakarta
- Poerwowidodo. 1993. Telaah Kesuburan Tanah. Bandung : Penerbit Angkasa
- Pradhan, D., Suri, K.A., and Biswasroy, P. 2013. Golden Heart of the Nature: *Piper betle* L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol.1(6):147-167
- Rai, I. G. A. 2006. Aktivitas fungisida ekstrak daun saba (*Piper majusculum* Blume) terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, penyebab penyakit Busuk Batang pada Panili. Tesis. Program Magister Program Studi Bioteknologi Universitas Udayana.
- Rubatzky, V. E. dan M. Yamaguchi. 1998. Sayuran Dunia 2 Prinsip, Produksi, dan Gizi. Bandung : Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Rukmana, R. dan Yuyun Yuniarsih. 1996. Kedelai : Budidaya dan pascapanen. Kanisius. Yogyakarta : Kanisius.

- Semangun, Haryono. 2006. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Cetakan ke-3. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press
- Sastrahidayat, IR. 2014. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Usaha Nasional. Surabaya
- Suhartina. 2003. Perkembangan dan Diskripsi Varietas Unggul Kedele 1918-2004. Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Malang.
- Sumarno dan Manshuri,A.G. 1999. Persyaratan Tumbuh dan Wilayah Produksi Kedelai di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor.
- Suprpto.1999. Bertanam Kedelai. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Suprpto, H.S. 2001. Bertanam Kedelai. Cetakan Keduapuluh. Jakarta : Penerbit Penebar Swadaya.
- Suwondo, S., Sidik, R.S. Sumadilaga dan Sularko, R.M. 1992. Aktivitas Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Bakteri Warta Tumbuhan Obat Indonesia
- Tangendjaja, B., Yusdja., dan Nyak, I. 2003. Analisis ekonomi permintaan jagung untuk pakan dalam: Kasryno et al. (Eds). Ekonomi Jagung Indonesia. Jakarta : Badan Litbang Pertanian
- Tyas, K. N. 2006. Adaptasi Kedelai Terhadap Intensitas Cahaya Rendah Melalui Efisiensi Penangkapan Cahaya. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Voigt, R.1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Diterjemahkan oleh: Soendani N. S. Yogyakarta : UGM Press
- Ridwan, A.N., Hidayat, F.K., Kusherdanto dan Sunyonto. 2017. Pengaruh dosis pupuk majemuk NPK dan pupuk pelengkap plant catalyst terhadap pertumbuhan dan produksi kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). Lampung : J. Agrotek. Tropika: Vol.5(1):1-6
- Zuleika. 2001. Pengaruh pemupukan N susulan terhadap pertumbuhan dan hasil empat genotype kedelai (*Glycine max* L. [Merr.]. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 80 hlm.

LAMPIRAN

Tabel Analisa Ragam Pertumbuhan Diameter Koloni Jamur *Sclerotium rolfsii*Tabel Lampiran 1. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 1 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	248,72	5	49,74	1658,13*	3,30
Galat	0,68	24	0,03		
Total	249,40	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 2. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 2 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	569,21	5	113,84	569,21*	3,30
Galat	3,62	24	0,20		
Total	572,83	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 3 hsi

Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	1253,71	5	250,74	737,47*	3,30
Galat	6,19	24	0,34		
Total	1259,90	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 4 hsi

Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	2545,30	5	509,06	2121,08*	3,30
Galat	4,44	24	0,24		
Total	2549,74	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 5. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 5 hsi

Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	3730,08	5	746,01	5738,58*	3,30
Galat	2,37	24	0,13		
Total	3732,45	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 6. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 6 hsi

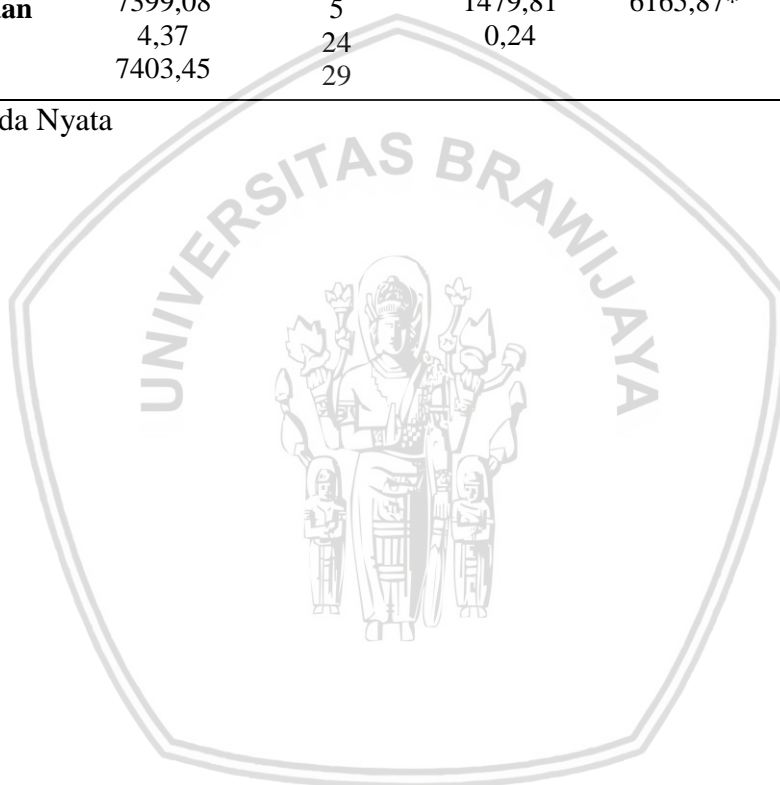
Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	5279,00	5	1055,80	4232,20	3,30
Galat	4,50	24	0,25		
Total	5283,50	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 7. Analisis Ragam Diameter Koloni Jamur *S.rolfsii* 7 hsi

Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	7399,08	5	1479,81	6165,87*	3,30
Galat	4,37	24	0,24		
Total	7403,45	29			

*) Berbeda Nyata



Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Koloni Jamur *Sclerotium rolfsii*

Tabel Lampiran 8. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 1 hsi

Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	33942,9	5	6788,59	2168,9*	3,3
Galat	56,6	24	3,13		
Total	33999,5	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 9. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 2 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	29371,9	5	5874,4	357,53*	3,30
Galat	299,6	24	16,43		
Total	29671,5	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 10. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 3 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	25845,53	5	5169,10	895,86*	3,30
Galat	121,9	24	5,77		
Total	25967,43	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 11. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 4 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	25632,29	5	5126,45	4791,07*	3,30
Galat	19,44	24	1,07		
Total	25651,73	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 12. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 5 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	25375,24	5	5075,04	817,23*	3,30
Galat	27,41	24	6,21		
Total	24975,82	29			

*) Berbeda Nyata

Tabel Lampiran 13. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 6 hsi

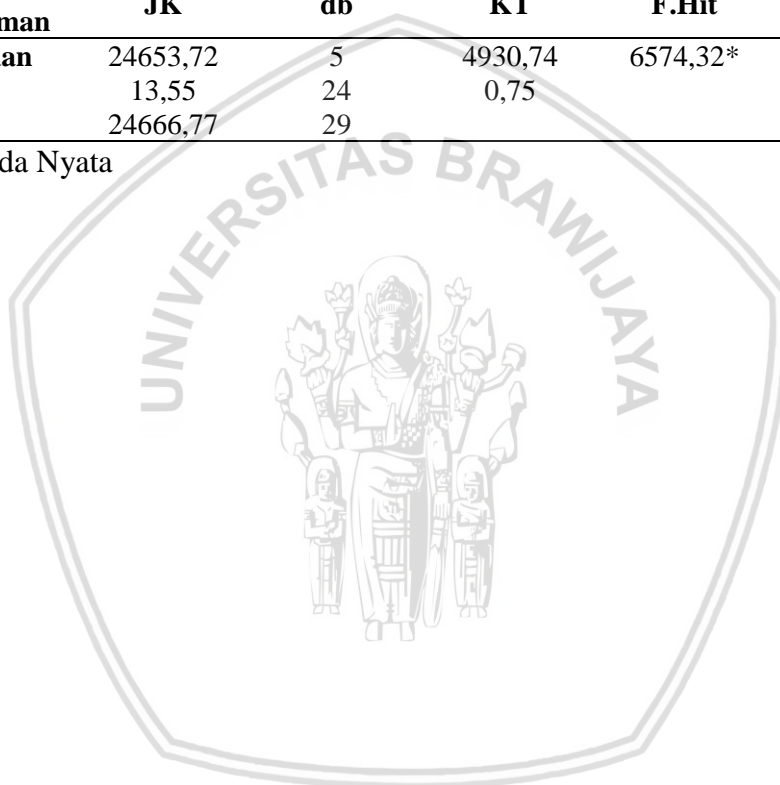
Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	24948,41	5	4989,68	3282,68*	3,30
Galat	27,41	24	1,52		
Total	24975,82	29			

*) Berbeda Nyata

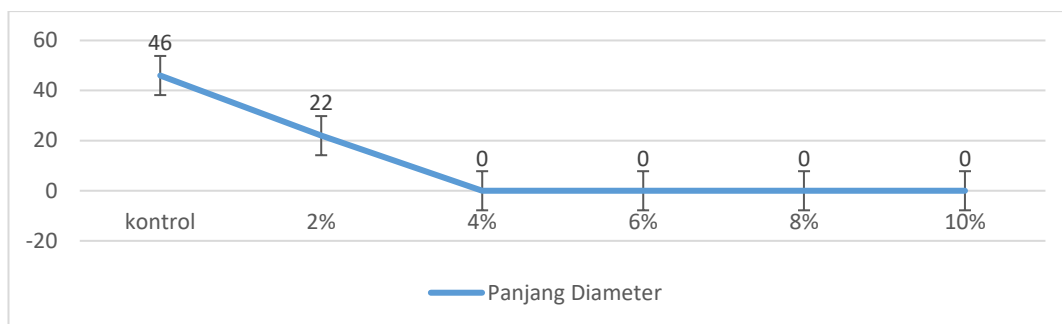
Tabel Lampiran 14. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Jamur *S.rolfsii* 7 hsi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F.Tab (5%)
Perlakuan	24653,72	5	4930,74	6574,32*	3,30
Galat	13,55	24	0,75		
Total	24666,77	29			

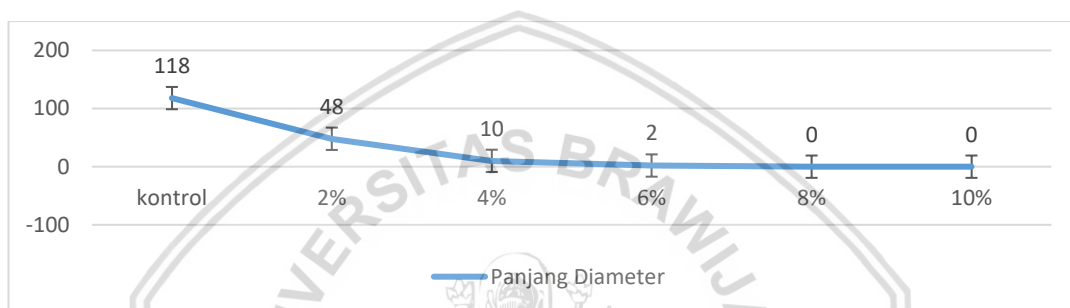
*) Berbeda Nyata



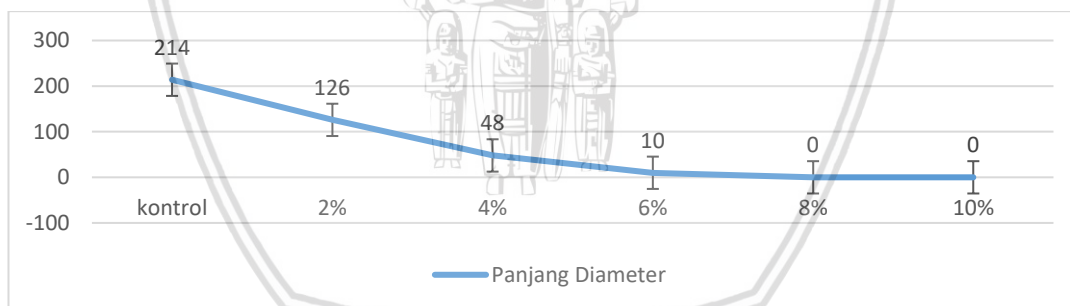
Grafik pertumbuhan diameter koloni jamur *Sclerotium rolfsii* (mm)



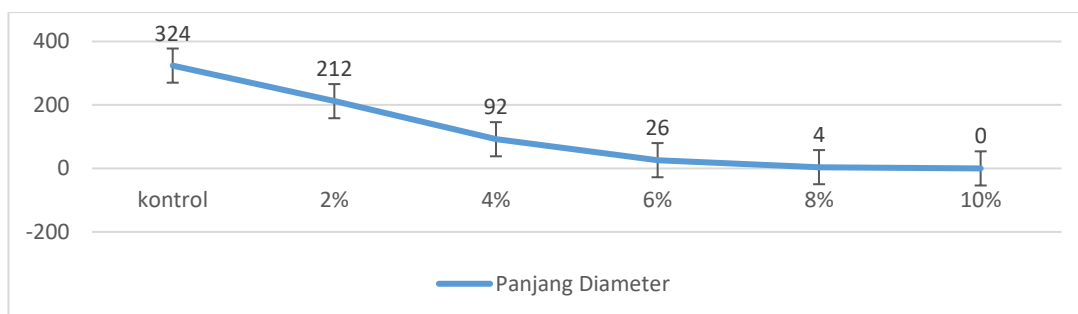
Gambar Lampiran 1. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 1 hsi



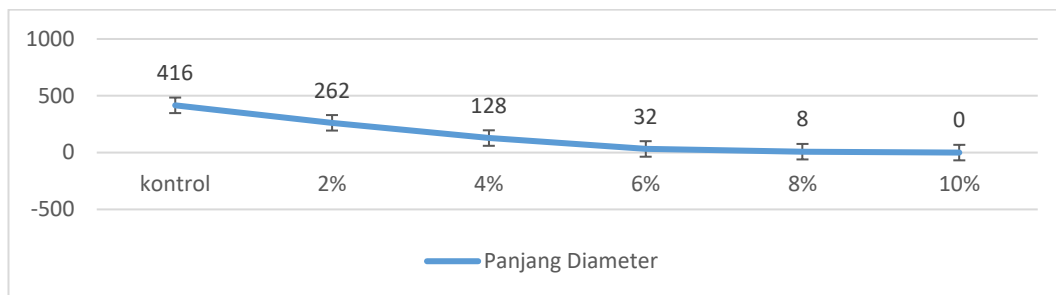
Gambar Lampiran 2. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 2 hsi



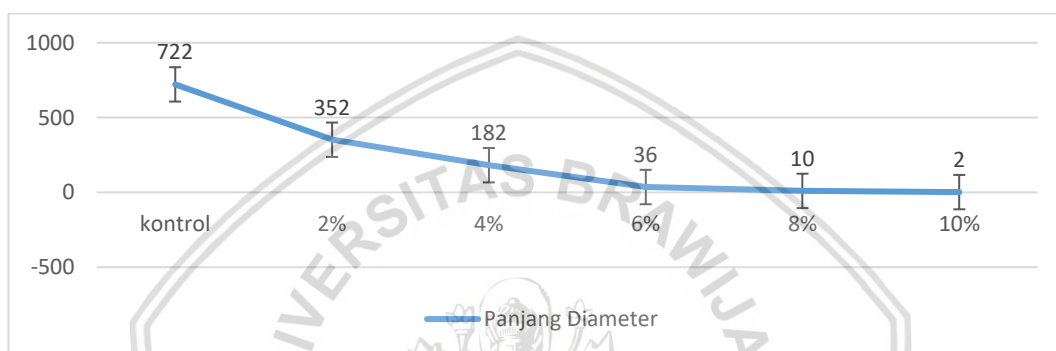
Gambar Lampiran 3. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 3 hsi



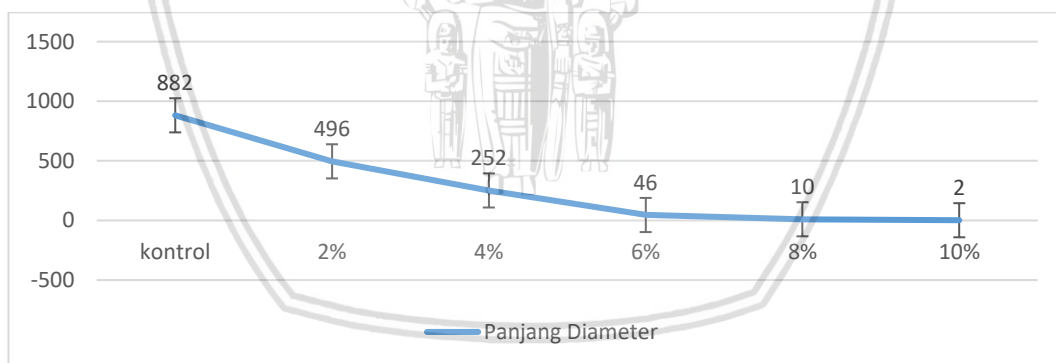
Gambar Lampiran 4. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 4 hsi



Gambar Lampiran 5. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 5 hsi



Gambar Lampiran 6. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 6 hsi



Gambar Lampiran 7. Rerata pertumbuhan diameter koloni jamur *S. rolfsii* 7 hsi

Lampiran Perhitungan rendemen ekstrak daun Sirih Hijau dengan pelarut Methanol 70 %

Ekstraksi pertama :

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{10,5 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,5 \%\end{aligned}$$

Ekstraksi kedua :

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{11 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11 \%\end{aligned}$$

Ekstraksi ketiga :

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{11,5 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,5 \%\end{aligned}$$



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 92A / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Sirih hijau**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : JEANNIFER TAMBUNAN
NIM : 1450740200111135
Fakultas : PERTANIAN JUR. HPT
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. Perihal determinasi tanaman sirih hijau

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Sub Kelas : Magnoliidae
Bangsa : Piperales
Suku : Piperaceae
Marga : Piper
Jenis : *Piper betle* Linn.
Sinonim : *Chavica auriculata* Miq., *Arthanthe hixagona*, *Chavica betle* Miq.
Nama Daerah : Ranub (Aceh); sereh (Gayo); belo (Batak); sirih (Palembang); sirieti (Minangkabau); cambai (Lampung); seureuh (Sunda); suruh (Jawa Tengah); base leko (Sasak); nahi (Bima); kowak (Sumba); doniile (Gorontalo); parigi (Toli-toli); gamnjeng (Makasar); gies (Halmahera); bido (Ternate).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802b-803b-804b-805a-806b-807b-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-823b-1b-2b-3b-23b.

2. Morfologi

Habitus: Perdu, merambat. Batang: Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, hijau. Daun: Tunggal, bulat panjang, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan menyirip, hijau, hijau tua. Bunga: Majemuk, bentuk bulir, daun pelindung ±1 mm, bentuk bulat panjang, bulir jantan panjang 1,5-3 cm, benang sari dua, pendek, bulir betina panjang 1,5-6 cm, kelapa putik tiga sampai lima, putih, hijau kekuningan. Buah: Buni, bulat, hijau keabu-abuan. Akar: Tunggal, bulat, coklat kekuningan.

3. Nama Simplisia

: Piperis Folium/ Daun sirih.

4. Kandungan

: Daun mengandung senyawa minyak atsiri, seperti katekol, kavikol, kadinen, karvakrol, kariofilen, kavibetol, kavikol, 1,8-sineol, estragol, dan eugenol, serta senyawa lain, seperti pirokatekin, terpinil asetat, alkaloid, piperin, flavonoid, saponin, dan polifenol.

5. Penggunaan

: Penelitian

6. Daftar Pustaka




- Anonim. 1980. *Materia Medica Indonesia "Jilid IV"*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2007. *Serial Tanaman Obat "SIRIH"*. Badan POM Republik Indonesia.
- Anonim. <http://www.plantamor.com/sirih>, diakses tanggal 9 Desember 2010.
- Backer, C.A dan Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora OF Java (Spermatophytes only) Vol I*. Wolters-Noordhoff NV, Groningen, the Netherlands.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.



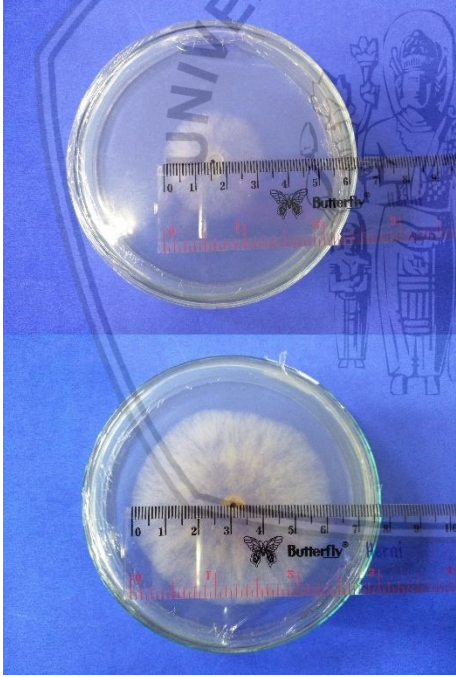
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
Kota Batu, 1 Maret 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu
[Signature]
Drs. Apt. M.Kes.
NIP.19611102 199103 1 003

Gambar Lampiran 8. Kunci Determinasi tanaman Sirih Hijau

Gambar Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

No.	Dokumentasi	Keterangan
1		<p>Tanaman kedelai yang terserang hama dan penyakit di Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi (BALITKABI), Pakisaji Kota Malang – Jawa Timur.</p>
2		<p>Metode Maserasi sebelum melakukan ekstraksi. Daun Sirih Hijau yang sudah dihaluskan dicampurkan dengan Methanol 70% sebagai pelarut, di maserasi selama 2x24 jam.</p>
3		<p>Proses Ekstraksi menggunakan alat <i>Vacum Rotary Evaporator</i>. <i>Vacum rotary evaporator</i> merupakan alat yang digunakan pada pemisahan pelarut Metanol 70% dengan ekstrak murni daun Sirih Hijau sehingga didapatkan larutan pekat berwarna hijau tua hasil ekstrak.</p>

4		<p>Hasil murni Ekstrak Daun Sirih Hijau.</p>
5		<p>Penambahan Konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau pada media PDA sebelum dituangkan ke cawan petri.</p>
6		<p>Pengukuran diameter koloni Jamur <i>S. rolfsii</i> setiap hari.</p>